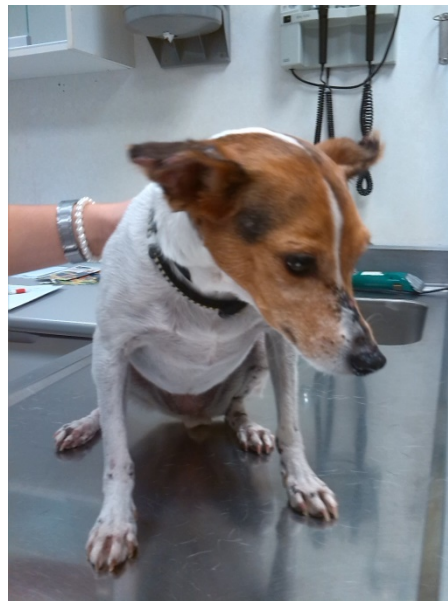


Fakulteten för veterinärmedicin  
och husdjursvetenskap  
Institutionen för BVF, sektionen för parasitologi

# Fallstudie av *Leishmania infantum* hos hundar, diagnostiska metoder, behandling och profylax

*Sabrina Casales Hannsberger*



*Uppsala  
2014*

*Examensarbete 30 hp inom veterinärprogrammet*

*ISSN 1652-8697  
Examensarbete 2014:69*



# Fallstudie av *Leishmania infantum* hos hundar, diagnostiska metoder, behandling och profylax

## A Case study of *Leishmania infantum* in dogs, diagnostic methods, treatment and prophylaxis

*Sabrina Casales Hannsberger*

**Handledare:** Johan Höglund, BVF, sektionen för parasitologi

**Ev. Biträdande handledare:** Xavier Roura, UAB, Hospital clinic veterinari

**Examinator:** Gunilla Trowald-Wigh, BVF, sektionen bakteriologi och livsmedelssäkerhet

*Examensarbete i veterinärmedicin*

**Omfattning:** 30 hp

**Nivå och fördjupning:** Avancerad nivå, A2E

**Kurskod:** EX0751

**Utgivningsort:** Uppsala

**Utgivningsår:** 2014

**Delnummer i serie:** Examensarbete 2014:69

**ISSN:** 1652-8697

**Elektronisk publicering:** <http://stud.epsilon.slu.se>

**Nyckelord:** *Leishmania infantum* hos hundar, leishmaniosis, behandling och diagnostik *Leishmania*, Leishvet, *Leishmanias* farmakologi

**Key words:** *Leishmania infantum* in dogs, leishmaniosis, treatment and diagnostic *Leishmania*, Leishvet, pharmacology of leishmania

Sveriges lantbruksuniversitet  
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap  
Institutionen för BVF, sektionen för parasitologi



## SAMMANFATTNING

”Canine leishmaniosis” (CL) är en vektorburen zoonos, orsakad av den encelliga parasiten *Leishmania infantum* och sprids via sandmyggor inom släktet *Phlebotomus*. Vektorerna förekommer inte i Sverige men det finns flera fall av leishmanios hos importerade hundar och veterinärmedicinsk kunskap om sjukdomen behövs förbättras. Sannolikt kan vi förvänta oss en ökning av antalet fall i landet på grund av att man tar med sina hundar vid längre utlandsvistelser samt också på grund av hundimport.

Arbetet syftar till att fördjupa kunskapen om *L. infantum* med fokus på diagnostik, behandling och profylaktiska metoder. Det förklarar även hur sjukdomen påverkar hundens hälsa och vilka immunologiska mekanismer som är involverade i sjukdomsutvecklingen.

Arbetet ger en klinisk inblick i hur veterinärer hanterar, diagnosticerar, behandlar och följer upp sjukdomen vid universitetsdjusjukhuset i Universidad Autónoma de Barcelona, Spanien, där man har lång erfarenhet av att behandla hundar med Leishmanios. Arton kliniska fall av leishmanios beskrivs och i vissa fall har man även kunnat följa upp hur hundarna svarat på olika typer av behandling. Dessutom så beskrivs olika diagnostiska metoder (ELISA och realtids-PCR), som används för att diagnosticera sjukdomen.

Det kan konstateras att infekterade hundar kan leva ett acceptabelt liv med rätt behandling. Sjukdomen är dock kronisk och därför måste djurägaren med regelbundna återbesök följa veterinärens ordinationer för att nå bästa resultat. Av 18 infekterade hundar avlivades med säkerhet fem. I två fall var det på grund av komplikationer till följd av leishmanios, hos två på grund av ekonomiska skäl och i ett fall till följd av neoplasi. I flera fall var det inte möjligt att få kunskap om behandlingsresultaten eftersom hundarna aldrig kom tillbaka till kliniken. Hundarnas prognos beror på sjukdomens svårighetsgrad, behandlingsresultat, ägarens intresse av uppföljning och ekonomiska avväganden.

Idag måste djurägare som reser med hundar till och från andra EU-länder kunna uppvisa ett hundpass där veterinärbehandlingar finns registrerade. Det vore önskvärt att veterinärer, i samband med att hundpass utfärdas, gav information om leishmanios. Betydelsen av profylaktisk behandling mot bett från vektorn och antikroppskontroll efter hemkomst är exempel på viktig information. Även möjligheten till kastrering av infekterade hundar efter återkomsten till Sverige kan ges eftersom det finns en viss risk för venereologisk spridning. Sedan 2011 finns det även ett lovande vaccin som förebygger sjukdomen.

## SUMMARY

"Canine leishmaniosis" (CL) is an import disease that is increasing in the country. The disease is a vector-borne zoonosis caused by the unicellular parasite *Leishmania infantum* and it spreads through sand-flies from the *Phlebotomus*-species. The vectors do not reside in Sweden but there are several cases of leishmaniosis due to imported dogs and the knowledge of this disease needs to get improved by Swedish veterinarians. Most likely, we can expect an increase in the number of cases in the country due to people taking their dogs for longer stays abroad and also because of the importation of dogs.

The work is based on deepening the knowledge of *L. infantum* with a focus on diagnosis, treatment and prophylactic methods. It also explains how the disease affects the dog's health, and the immunological mechanisms of infection that are involved in the development of the disease.

The work provides a clinical insight on how veterinarians manage, diagnose, treat and monitor the disease at the animal hospital in the Universidad Autónoma de Barcelona, Spain, where they have long experience in treating dogs with Leishmaniosis. Eighteen clinical cases have been described and in some it's possible to see the follow-up and how the dogs have responded to the treatment. Diagnostic methods like ELISA and real-time qPCR, which is recommended for diagnosis and follow-up are described.

It can be observed that infected dogs can have a good quality of life with the right treatment. The disease is chronic and therefore the animal owner must follow the veterinarian's prescriptions to achieve the best results with regular visits. Of the 18 infected dogs five were euthanized with certainty. In two cases it was due to complications caused by leishmaniosis, in two because of economic reasons, and in one case as a result of neoplasia. In several cases it was not possible to know the treatment results because the dogs did not come back to the clinic. The dogs prognosis depends on the severity of the disease, treatment outcomes, the owner's interest in monitoring the progress of the disease and the economic considerations.

Today, pet owners who travel with dogs between EU countries must show the dog's passport where veterinary treatments are recorded. Ideally, when the dog's passport is issued, the veterinarian could send information about Leishmaniosis, with recommendations for prophylactic treatment against the vector's bites, an antibody control after homecoming and castration of infected dogs when they return to Sweden because there is a certain risk of venereological distribution. Since 2011, there is also a promising vaccine to prevent the disease.



# INNEHÅLLSFÖRTECKNING

<b>INLEDNING</b>	<b>1</b>
<b>LITTERATURÖVERSIKT</b>	<b>1</b>
BAKGRUND	1
LIVSCYKEL OCH SPRIDNING	2
IMMUNOLOGISKT SVAR	3
PATOLOGI	4
KLINISKA FYND	5
TOLKNING AV LABRESULTAT	6
DIAGNOSTIK	7
BEHANDLING	9
ÅTERBESÖK	10
PROFYLAX	12
<b>MATERIAL OCH METODER</b>	<b>13</b>
PATIENTMATERIAL	13
UABS HANTERING AV HUNDPATIENTER MED CL	13
REFERENS INTERVALL	14
FALLBESKRIVNING	15
FALL 1	15
FALL 2	16
FALL 3	17
FALL 4	18
FALL 5	20
FALL 6	21
FALL 7	22
FALL 8	23
FALL 9	24
FALL 10	25
FALL 11	26
FALL 12	27
FALL 13	29
FALL 14	29
FALL 15	31
FALL 16	31
FALL 17	32
FALL 18	34
<b>RESULTAT</b>	<b>34</b>
<b>DISKUSSION</b>	<b>34</b>
SVERIGE OCH LEISHMANIOS	35
IMPORT OCH RISK FÖR LEISHMANIOSSPRIDNING I SVERIGE	36
<b>APPENDIX 1</b>	<b>38</b>
ELISA INDIREKT TEST	38
<b>APPENDIX 2</b>	<b>39</b>
PROTOKOLL FÖR PCR MED PURELINK® GENOMICS DNA KITS	39



## INLEDNING

Europeiska Unionen (EU) har sedan första januari 2012 förenklat reglerna vid införsel av hundar och andra sällskapsdjur till Sverige (<http://www.jordbruksverket.se>). Vid sökning på internet hittas dessutom flera hemsidor som erbjuder adoption av europeiska gatuhundar (<http://www.svt.se>). Svenskar som reser utomlands kan numera även ta med sig sina hundar även när de semesterar i områden där sjukdomen finns. Detta innebär att hundar idag i allt högre grad än tidigare är exponerade för olika exotiska smittor och som på detta vis kan föras in i Sverige.

Leishmanios är i dagsläget en relativt ovanlig sjukdom i Sverige. Därför saknar många veterinärer praktisk erfarenhet och kunskap om hur sjukdomen ska hanteras. Syftet med denna studie var 1) att beskriva olika leishmanios-fall hos spanska hundar samt att förklara hur man diagnosticerar sjukdomen i ett område där smittan är vanlig, 2) följa upp behandlingssvar, för att få en uppfattning hur infekterade hundar påverkas av sjukdomen och hur de svarar på behandling, och 3) att föra en diskussion om möjliga krav som Jordbruksverket kan ställa vid införsel av hundar från endemiska områden.

## LITTERATURÖVERSIKT

### Bakgrund

Leishmanios hos hundar "canine leishmaniosis" (CL) är en sjukdom som orsakas av den encelliga parasiten *Leishmania infantum*. Sjukdomen finns i många länder och är en potentiellt farlig zoonos (Solano-Gallego et al., 2011). Det finns idag fler än 30 olika *Leishmania*-arter men bara 10 arter anses ha klinisk betydelse inom human- och veterinärmedicinen (Bates, 2007). CL är en endemisk sjukdom som återfinns i fler än 70 länder. Sjukdomen är främst spridd i olika regioner i Sydeuropa, Afrika, Asien, Syd och Centralamerika, men den har under senare år även rapporterats från USA (Solano-Gallego et al., 2011). Sporadiska fall av CL upptäcks ibland även utanför parasitens det normala utbredningsområde genom att den tagit sig in via import av infekterade hundar till följd av ökad turism och invandring från endemiska områden. Parasitens vektor, sandmyggan *Phlebotomus*, kan om de rätta förutsättningarna finns därmed sprida sjukdomen från asymtomatiska smittbärare (Baneth, 2008). Socioekonomiska faktorer och möjligen klimatförändringar har gjort att spridningen av CL har ökat inom Europa under senare år. Exempelvis så har *L. infantum* under senare år spridits norrut i Italien, Spanien och de franska Pyrenéerna (Solano-Gallego et al., 2011). Sporadiska rapporter om förekomst av sjukdomen har även noterats vid importer av hundar till Holland, England och Sverige, men där de sandmyggor som är nödvändiga för att etablera sjukdomen normalt inte finns (Baneth, 2008).



Endemiskt område

Område utan risk

Bild 1. Canine leishmaniosis fördelning i Europa modifierad från [www.cvbd.org](http://www.cvbd.org)

### Livscykel och spridning

Hundar, smittas med *L. infantum* via en vektor inom släktet *Phlebotomus* (sandmyggor), vilken är de enda artopoder som är anpassade för biologisk spridning av leishmanios (Solano-Gallego et al., 2011). För att parasitens livscykel skall fullbordas krävs alltså både rätt vektor och ett ryggradsdjur som kan fungera som parasitens huvudvärd och hos vilket där olika parasitstadier kan utvecklas (Baneth, 2008). Bara sandmyggornas honor suger blod, medan hanarna är vegetarianer. När honan tar ett blodmål från ett infekterat värddjur kommer parasitens amastigot-stadium att överföras. Under en period från fyra upp till tjugofem dagar utvecklas parasiten inuti sandmyggan (Killick-Kendrick, 1999) och där den omvandlas i tarmkanalen till promastigot (Bates, 2007). När en infekterad sandmygga biter ett annat ryggradsdjur kommer promastigoten att överföras till nya värddjur. Efter att parasiten har penetrerat dermis fagocyteras den av en makrofag. Makrofagen försöker döda parasiten via fria syreradikaler som till exempel kväveoxid. Parasiten har dock en specifik mekanism med vilken den kan undvika värdjurets immunförsvar och den kan därmed fortsätta att tillväxa, utvecklas och föröka sig till en icke rörlig amastigot. Således fullföljs parasitens livscykel. När makrofagerna är fulla med amastigoter spricker de och frigörs varvid de kan invadera nya makrofager (Alvar et al., 2004). Resultatet för med vilken effektivitet detta sker beror till stor på värdjurets immunstatus.

Man misstänker att direkt spridning av *L. infantum* mellan olika hundar kan även ske via sårkontakt efter bett (Solano-Gallego et al., 2011). Detta är en alternativ spridningsform för *L. infantum* och som är oberoende av sandmyggor. Man har även visat att sjukdomen kan spridas via blodtransfusion, vertikalt till fostret och genom venereologisk spridning.

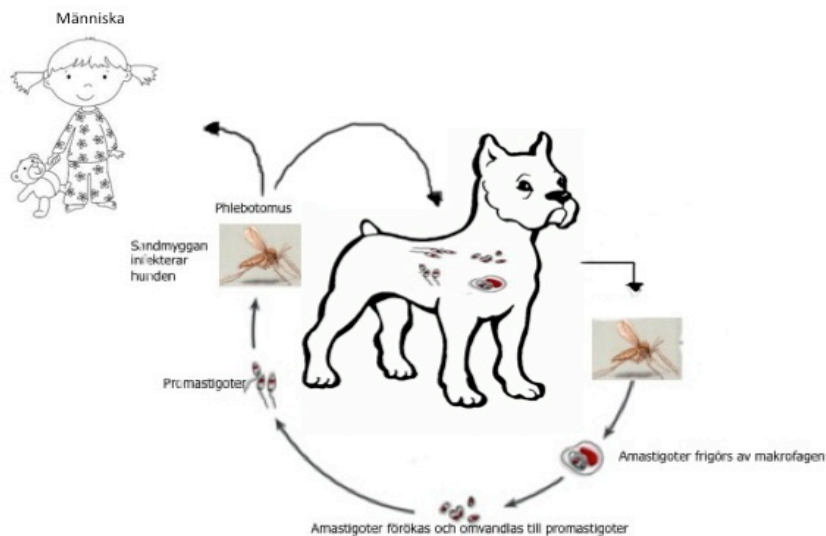


Bild 2. *Leishmania infantum* livcykeln modifierad från Roze, 2005.

## Immunologiskt svar

Enligt det traditionella synsättet drabbas hundar som är infekterade med *L. infantum* av allvarlig klinisk leishmanios efter en inkubationsperiod på flera månader (Solano-Gallego et al., 2009). Detta har ifrågasatts under senare år eftersom CL är en sjukdom med hög prevalens av subkliniska infektioner och där långt ifrån alla fall uppvisar klinisk sjukdom. Hundar med subkliniska sjukdomstecken vid undersökning av rutinprover (CBC, biokemi och urinanalys) är i övrigt friska. Patienter med konfirmerad sjukdom inkluderande förekomst av parasiten definieras som kliniskt infekterade hundar. Ett problem vid diagnosställandet är att många infekterade djur kan vara asymtomatiska smittbärare från månader upp till år och där inkubationstiden i vissa fall kan vara så lång som sju år (Shaw, 1991).

Studier med olika musmodeller har visat att immunförsvaret mot *L. infantum* är T-cells beroende och cytokinmedierat (Pinelli et al., 1994). Vid Th2 medierat immunsvar utvecklar patienten vanligtvis en kronisk progressiv sjukdom (Shaw, 1991). I djurförsök har man sett att individer som utvecklar Th2 svar i regel producerar IL-4, IL-10 och rikligt med antikroppar (Baneth, 2008). Om immunförsvaret däremot är Th1 medierat kommer hundarna att vara infekterade men de utvecklar i allmänhet inga kliniska symptom, alternativt utvecklas en mild och självbegränsande leishmanios (Shaw, 1991). I djurförsök med experimentellt infekterade möss har man sett att individer som svarar med Th1 svar producerar IFN- $\gamma$  och IL-12 som stimulerar makrofagerna att döda parasiten (Baneth, 2008). Makrofager som är infekterade med *L. infantum* lyseras av komplex av CD8<sup>+</sup> och CD4<sup>+</sup> cytotoxiska T-celler. Detta svar har visat sig vara nedsatt hos hundar med symptom där proliferationen av T-celler med leishmania-antigen och den antigenspecifika IFN- $\gamma$  produktionen är sänkt. Mekanismerna bakom denna polarisering är ännu inte helt utredd (Shaw, 1991).

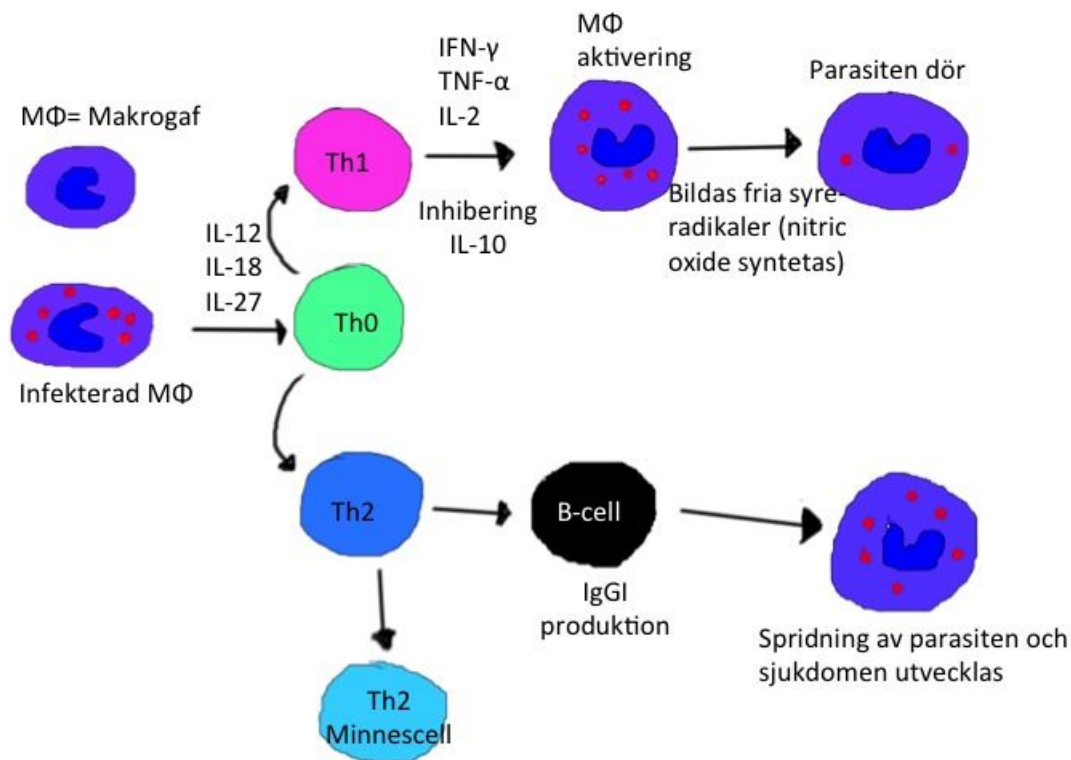


Bild 3. De två olika immunförsvarsvägarna som ses hos leishmaniosinfekterade hundar. Modifierad från CaniLeish, Virbac.

Leishmanios är ett exempel på en infektiös sjukdom som inducerar cirkulerande immunkomplex. Hos infekterade hundar som uppvisar Th2 svar sker en massiv icke specifik polyklonal aktivering av B-lymfocyterna och som i allmänhet är associerad med lymfoid follikulär hyperplasi och hypergammaglobulinemi. Detta leder till kraftig antikroppsproduktion som skadar cellerna i olika och vävnader som i sin tur framkallar typ II och typ III hyposensibilisering (Shaw, 1991).

## Patologi

CL karakteriseras av två olika typer av lesioner, som benämns kutana respektive visceral (Fry & MacGiven, 2007). På den plats där vektorn biter värddjuret bildas den kutana formen och som oftast är ulcerös hos hundar. Ulcerationen orsakas genom att parasiten prolifererar sig inuti makrofagerna som gör att neutrofiler, lymfocyter och plasmaceller ansamlas. Det ger en fokal destruktion av dermis och epidermis. Vid den visceral formen ses förstörade abdominella lymfknotor, icke regenerativ anemi och polyklonal hypergammaglobulinemi med en total proteinkoncentration som i regel är större än 100g/l.

Visceral leishmanios är en så kallad retikuloendotelial infektion, vilket betyder att parasiten invaderar specifika celler framför allt i mjälten och som ökar i antal (Fry & MacGiven, 2007). Den vita pulpan blir överfull och mjälten förstöras därvid (Bates, 2007). Makrofaghyperplasi inträffar framför allt i den röda pulpan för att kunna fagocytera blodkroppar med parasiter (Fry & MacGiven, 2007). *L. infantum* gör att makrofagerna prolifererar varvid stora delar av mjälten ersätts med dessa celler. Parasiten infiltrerar också benmärgen och leverns

portaområde. Kupfferceller gör att levern infiltreras med fett och blir förstorad. Även makrofager, myelocyter och neutrofiler i benmärgen fylls med parasiter. Lymfknutorna blir förstorade och tarmens mukosa infiltreras med makrofager som är överfyllda med parasiter (Bates, 2007).

Vid obduktion kan man alltså se att levern, mjälten och lymfknutorna är förstorade (Bates, 2007). Histologiskt noteras att lymfknutors sinus är fyllda med makrofager (sinus histocytosis) vilka är fyllda med intracytoplasmatiska organismer. Också aspirat från lymfknutorna innehåller infekterade makrofager och benmärgen brukar vara hyperplastisk och i ett senare skede kan man även hitta en atrofierad mjälte och förkrympta lymfknutor (Fry & MacGiven, 2007).

Vid njurkomplikationer är glomerulonefrit och tubulär interstitiell nefrit de vanligaste patologiska fynden medan amyloidosis är ovanligare (Fry & MacGiven, 2007). Glomerulonefrit är i regel associerad med immunkomplexinlagring i glomeruli och är huvudsakligen membranoproliferativ och/eller mesangioproliferativ. Andra typer av histologisk glomerulär sjukdom har också blivit beskriven (membranös, fokal, segmentell, kronisk, minimala förändringar) (Solano-Gallego et al., 2009). Infekterade makrofager med *L. infantum* ansamlas på olika platser i kroppen, mest i de lymfoida organen. Detta resulterar i en generaliserad granulomatös lymfadenit, splenomegali och hepatomegali. Sjukdomens utveckling kan även orsaka granulomatös dermatit, uveit och infiltration i benmärgen med infekterade makrofager (Shaw, 1991).

## Kliniska fynd

CL är en kronisk sjukdom utan specifika symtom. Sjukdomen är dock ofta associerad med lymfadenomegali, kutana tecken, viktminskning, splenomegali och bleka slemhinnor. Typiska kutana tecknen är exfoliativ dermatit som karakteriseras av silvriga fjäll i det periokulära området och på extremiteterna. Man kan också se periokulär alopeci och onychogryphosis<sup>1</sup>. Ulcerativ och nodulär dermatit ger ofta sekundärt vaskulit och granulomatös inflammation (Shaw, 1991). CL är i allmänhet även associerad med andra kliniska symtom som kolit, ögonproblem, intermitent pyrexia och svår njursvikt (P. Ciaramella et al., 1997). De ögonförändringar som ses är blepharitis (exfoliativ, ulcerativ eller nodulär), nodulär konjunktivit, keratokonjunktivit och främre uveit/endoftalmit (Solano-Gallego et al., 2011). Immunosuppressionen gör att sekundära infektioner som exempelvis *Ehrlichia*, *Babesia*, *Hepatozoon*, *Trypanosoma* och *Dirofilaria* förekommer (Baneth, 2008). Mindre vanliga symtom är perikardiär tamponad, masseter myositis, pankreatit, meningit, kronisk kolit, pemphigus och polyartrit. Trombos på grund av nefrotiskt syndrom som är orsakad av en glomerulonefrit förekommer också. En sammanställning av kliniska manifestationer redovisas i Tabell 1.

---

<sup>1</sup> Överdriven klotillväxt

Tabell 1. *Kliniska manifestationer hos hundar infekterade med L. infantum, (Solano-Gallego et al., 2011)*

<b>Kliniska manifestationer</b>		
<b>Generella</b>	Förstorade lymfkörtlar	Splenomegali
	Viktnedgång	Polyuri/polydipsi
	Letargi	Feber
	Bleka slemhinnor	Kräkning
	Diarré	
<b>Kutana</b>	Ikke kliande dermatit med/utan alopeci	Papillär dermatit
	Erosiv-ulcerativ dermatit	Pustulär dermatit
	Nodulär dermatit	Onychogryphosis
<b>Ögon</b>	Blefarit	
	Keratokonjunktivit	
	Uveit/endoftalmit	
<b>Övriga</b>	Mucokutan/mucosa	Epistaxi
	ulcerativ eller nodulära lesioner	Vaskulit
	Hälta (polyartrit, ostemyelit, polymyositis)	Tromboembolism
		Neurologisk påverkan

### Tolkning av labresultat

Ofta upptäcks icke regenerativ anemi beroende på mängden parasiter i benmärgen och svaret dessa ger vid kronisk inflammation (Cairó, 1991). Trombocytopeni är inte konstant, sedimenteringshastigheten ökar vid ökning av plasmaglobulinerna och anemi (Rodríguez et al., 1984).

Vid analys av den vita blod bilden noteras ofta lindrig leukopeni (Groulade, 1977). Detta beror på att benmärgen är utmattad (Varela, 1992). I de kutana formerna av leishmanios med sekundär infektion, ses leukocytos med neutrofili (Rodríguez et al., 1984) Man ser också tydlig leukocytos med en ökning av antalet lymfocyter och en sänkning av neutrofilerna. Man har också noterat monocytos som tecken på ett långdraget inflammatoriskt tillstånd (Bourdoiseau, 1993). Vid eosinofili är den i regel endast temporär och ses främst när parasiten invaderar (Martínez & Lloret, 1992).

Urinanalys avslöjar proteinuri (Cabassu et al., 1988b), vilket kan vara lindrig till kraftig (Groulade, 1988), och ibland med isostenuri eller hypostenuri (Koutinas et al., 1995). I urinsedimentet detekteras hyalincylindrar, granulat (Groulade, 1988) och hematuri (Cabassu et al., 1988a).

Ökande urea och kreatininnivåer beror på njursvikt (Slappendel, 1988). Detta är en kronisk process där prognosen är dålig (Rodríguez et al., 1981). Det verkar som att ökade kreatininnivåer alltid är förknippat med en azotemiökning. En god prognostisk markör är i de fall där man ser en azotemiökning, men som inte följs av proteinuri eller stegrade kreatinivärden (Cabbasu et al., 1988a)

I den tidiga fasen av sjukdomen kan man upptäcka proteinuri med hyalina cylindrar (Groulade, 1988). Då kan P/C (det vill säga förhållande mellan protein i urinen/kreatinin) användas som tecken på njurskada hos hundar med leishmanios (Palacio et al., 1995).

Förekomst av en topp i alfa-2-globulin är inte endast karaktäristisk för en njurpåverkan utan sker också då parasiten sprider sig i kroppen (Groulade, 1977) och som markör på organiska lesioner (Groulade, 1983). När toppen överskrider 2/3 av albumin är det i princip säkert att ett nekrotiserat fokus har uppkommit (Groulade, 1988).

Proteinfractionering (baserade på plasmaelektrofores) bör göras som komplement till de totala serumproteinerna (Rodríguez et al., 1984). När leishmanios progriderar påverkas njurarna och albumin förloras via urinen. Detta kan kompenseras genom en ökning av gamma-globulinerna och leder till återställda värden av de totala serumproteinerna. Leishmanios påverkar också levern genom en ökning på ALAT och ASAT (Ferrer, 1992). Se sammanställning av labavvikelser i tabell 2.

Tabell 2. *Leishmanios lab avvikelser, Solano-Gallego et al., (2011)*

Serumprotein/proteinogram	CBC/hemostas	Biokemisk profil/urinanalys
Hyperglobulinemi	Trombocytopati	Måttlig till grav proteinuri
Hypoalbuminemi	Trombocytopeni	Renal azotemi
Minskad albumin/globulin ratio	Leukocytos/leukopeni	Höjd leverenzymaktivitet
	Mild till måttlig icke regenerativ anemi	
	Försämrade sekundära hemostas och fibrinolys	

## Diagnostik

Diagnostiken av CL är väldigt komplex (Solano-Gallego et al., 2011). Den bör baseras på en ”complete blood count” (CBC), serologi, PCR, biokemisk profil och urinanalys. Patienter med leishmanios är dessutom ofta sekundärt infekterade med andra vektorburna-sjukdomar. Därför baseras de kliniska fynden på en differential diagnos som är mer eller mindre unik för varje patient.

Cytologi från kutana lesioner, aspirat från lymfknutor, benmärg eller mjälte utförs för att söka efter och identifiera intracellulära amastigoter i makrogaferna (Solano-Gallego et al., 2009).

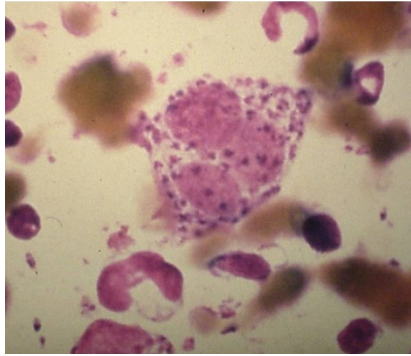


Bild 4. Intracellulära amastigoter i en makrofag. Bild: Xavier Roura

Den mest tillförlitliga diagnostiska metoden är detektion av specifika antikroppar mot *L. infantum* med hjälp av serologiska metoder som till exempel ELISA (Solano-Gallego et al., 2009).

I Univets laboratorier i Barcelona utförs ett indirekt ELISA test. Jag utförde testet från tre patienter enligt det protokollet i appendix 1. Testen fungerar genom att man först binder ett specifikt antigen till de olika brunnarna i en mikrotitersplatta. Därefter tillsätts serum med *L. infantum* antikroppar som vid inkubering binder till det specifika antigenet. Sedan tvättar man plattan för att skölja bort ospecifika bindningar varefter ett konjugat tillsätts, det vill säga en sekundär antikropp som är kopplat till ett enzym. Slutligen tillsätts ett substrat som leder till ett färgomslag. Det är alltså enzymet som detekterar mängden antikroppar som bundit till antigenet och som gör det möjligt att kvantifiera antikroppsmängden i blodprovet.

Resultaten i varje brunn beräknas genom division med en positiv kontroll som finns med på alla plattor. Svaret uttrycks procentuellt (% seropositivitet) och tolkas enligt tabell 3.

Tabell 3. Tolkning av ELISA

	% av ak-antal
negativ	< 32 %
tveksamt	32 – 35 %
svagt positiv	35 – 80 %
måttligt positiv	80 -150 %
hög positiv	> 150 %

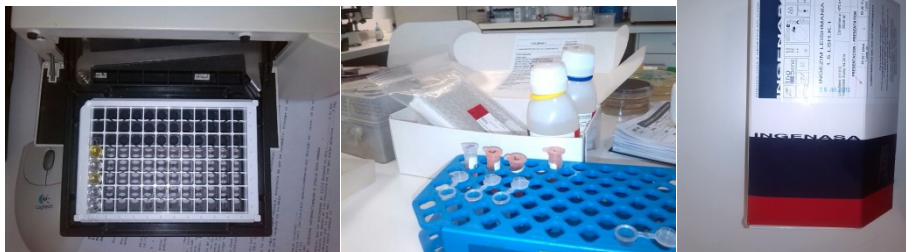


Bild 5. ELISAs mikrotitersplatta och Ingenasa ELISA-kit.

Bild: Sabrina Casales Hannsberger.



Man har även tillgång till en kvantitativ så kallad realtids-PCR som används för att konfirmera akut *L. infantum* infektion då låga antikropps nivåer inte behöver betyda sjukdom (Solano-Gallego et al., 2009).

Vid UAB (Universidad Autónoma de Barcelona) finns även laboratoriet Vetgenomics, och där utförs jag denna realtids PCR som bygger på en så kallad TaqMan assay som universitetet har utvecklat. Tekniken går ut på att man amplifierar en specifik region av *Leishmania* genom (18S ssu-RNA genen) med hjälp av ett unikt primerpar. En TaqMan assay består dels av en "reporter", dels en "quencher". Under amplifieringen binder "reportern" till de DNA-kopiorna som amplifieras under PCR reaktionen. När "reportern" binder till DNA-kopiorna separeras den från "quencher" varvid fluorescens uppkommer. Mängden parasit DNA i provet kvantifieras genom att mäta fluorescensen.

Kvantifiering med qPCR kan endast användas för att kontrollera smittstatus hos kroniskt infekterade hundpatienter. Metoden tillämpas bara på de patienter som är positiva vid konventionell PCR (Francino et al., 2006). Det är viktigt att påpeka att resultatet med konventionell PCR är en diskret variabel med endast två möjliga värden: positivt och negativt till skillnad från qPCR med TaqMan assay som ger ett kvantitativt svar. Protokollet beskrivs i appendix 2.

De prover som lämnas för *Leishmania*-PCR analys vid UAB är alltid från hundar som visar kliniska tecken som tyder på CL men där diagnosen är osäker (Francino et al., 2006). Inom endemiska områden hittas ibland hundar med ett tveksamt serologiskt svar. Patienten kan i dessa fall vara smittad men sjukdomen är ännu inte aktiv (subklinisk). Förmågan att detektera enstaka *Leishmania* parasiter med PCR är på så sätt till stor hjälp i det kliniska beslutet. Realtids PCR har också visat sig vara mycket användbar vid uppföljning av parasitstatus under behandlingsperioden, för att följa hur sjukdomen utvecklas.

Prov som analyseras för CL med hjälp av qPCR tas vanligtvis antingen från benmärg, lymfknotor, mjälte, hud och/eller konjunktiva (Solano-Gallego et al., 2011).

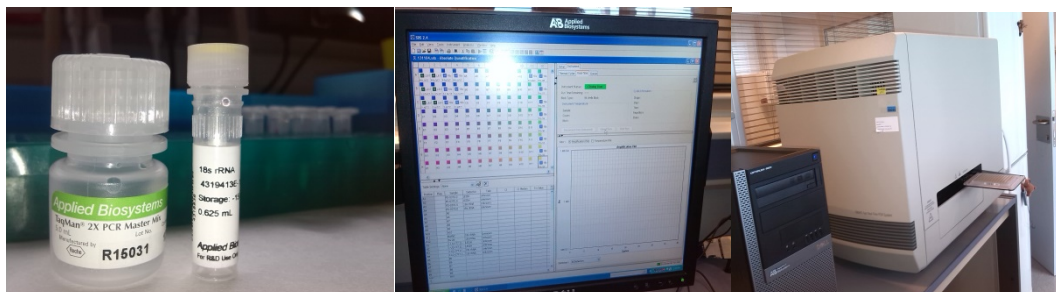


Bild 6. Kvantitativt real time PCR med TaqMan assay i 18s rRNA regionen.

Bild: Sabrina Casales Hannsberger.

## Behandling

Vid UAB graderas sjukdomen enligt en fyrgradig skala som redovisas i tabell 4 (Solano-Gallego et al., 2009). Det finns olika mediciner som används för behandling mot leishmanios anpassad till i vilket stadium sjukdomen är.

**Meglumine antimoniate** (Glucantime<sup>®</sup>) med en dosering på 75-100 mg/kg en gång om dagen eller 40-75 mg/kg två gånger om dagen under 4 veckor, som administreras subkutant. I Spanien lär veterinärerna djurägarna hur man ska injicera medicinen varefter behandlingen kan utföras i hemmet. Nefrotoxicitet och kutan abscess/cellulit är vanliga biverkningar (Solano-Gallego et al., 2011). Den huvudsakliga verkningsmekanismen för pentavalenta antimonial är ökad konsumtion av de intracellulära ATP-nivåerna som leder till glykolys- och fettsyreoxiderationsstörning i amastigoterna (Reguera et al., 1998).

**Miltefosine** uppvisar cytotoxiska egenskaper relaterad till interaktion med cellmembran eller cellens signalsystem. Det ges med en dosering på 2 mg/kg om dagen under 28 dagar, peroralt. Kräkningar och diarré är biverkningar (Solano-Gallego et al., 2011).

**Allopurinol** sänker halten av urinsyra i blodet och urinen och ges med en dosering på 10 mg/kg två gånger om dagen under 6-12 månader, peroralt (Solano-Gallego et al., 2011). ”Xanthine urolithiasis”<sup>2</sup> är en vanlig biverkning.

*Leishmania* kan inte re-syntetisera ”purin<sup>3</sup> ringen” från metabolismen då parasiten får det från värdjuret (Reguera et al., 1998). Purinmetabolism gör att enzymet hypoxanthine-guanine-fosforibosyl-transferas från amastigoter använder en inosine analog. Allopurinols funktion är att den blockerar Leishmanias ”purin metabolism-väg”. Det orsakar purin svält och parasitdöd.

**Amphotericin B**, dosering 0,5-0,8 mg/kg i.v. två gånger per vecka under två månader. Nackdelen med Amphotericin är administrering i.v. och den är nefrotoxisk samtidigt som CL har en direkt skadlig effekt på njurarna (L. Solano-Gallego, et al., 2009).

Kombinationen meglumine antimoniate och allopurinol är den mest effektiva behandlingen mot CL och utgör första handsvalet (L. Solano-Gallego et al., 2009).

## Återbesök

Vid leishmanios återbesök rekommenderas<sup>4</sup> att veterinären kontrollerar:

- ✓ Anamnes
- ✓ Allmän klinisk undersökning
- ✓ Blodprov (”Complete Blood Count”)

---

<sup>2</sup> Xanthine urolithiasis bildas p.g.a. att allopurinol blockerar enzymet xanthine oxidas vilkens funktion är att omvandla metabolismens biprodukt xanthine till urinsyra. Det går ut via urinen. Om enzymet är blockerat hamnar xanthine i blodet och urinen, det leder till hyperxanthinemi eller xantine urolithiasis som skadar njurarna (njursten)

<sup>3</sup> Puriner syntetiseras biologiskt som nukleotider och som ribotider

<sup>4</sup> Rekommendationerna är från Leishvet ([www.leishvet.info](http://www.leishvet.info)) fact sheet

- ✓ Biokemiska markörer som till ex. ALAT, Kreatinin
- ✓ Proteinogram (Elfores)
- ✓ Urinprov (proteinuri för att se om det finns protein läckage i urinen och mäta urindensitet för att se om avvikelse förekommer)

Återbesök rekommenderas efter en månads behandling, oberoende av preparatval. Under första året som hundpatienten behandlas görs återbesök var tredje-fjärde månad. När patienten blir kliniskt frisk bör sjukdomen kontrolleras var sjätte månad.

Tabell 4. *De fyra olika graderna av leishmanios hos hundar enligt Solano-Gallego et al., (2009)*

Klinisk gradering	Serologi resultat	Kliniska fynd	Laboratoriska fynd	Behandling	Prognos
Grad 1, lindrig sjukdom	Negativt till svagt positivt	Perifer lymfadenopati eller papillär dermatit	Allt normalt	Bara allopurinol	Bra
Grad 2, måttlig sjukdom	Svagt till högt positivt	Som grad 1 och kutana lesioner, onychogryfosis, ulceration, feber, anorexi, vikt minskning, epistaxi	Lindrig icke regenerativ anemi, hypergammaglobulinemi, hypoalbuminemi men normalt njurstatus	Allopurinol och meglumine	Bra till måttlig
Grad 3, kraftig sjukdom	Måttligt till högt positivt	Som grad 1 och 2 samt symtom från immunkomplex lesioner: vaskulit, artrit, uveit och glomerulonefrit	Som grad 2 och kronisk njursvikt och IRIS <sup>5</sup> grad 1 eller meglumine	Allopurinol och meglumine samt njursviktbehandling	Måttlig till dålig
Grad 4, väldigt kraftig sjukdom	Måttligt till högt positivt	Som grad 3 och pulmonär tromboembolism eller nefrotiskt syndrom eller "end stage" njursvikt	Som grad 2 och 3, IRIS grad III, proteinuri UPC >5	Bara allopurinol	Dålig

Hos hundar inom endemiskt område med seronegativt resultat och som saknar kliniska symtom efter behandlingen, kontrolleras sjukdomens utveckling med serologi var tredje-sjätte månad. I detta fall rekommenderas ingen behandling, istället bör man tänka på profylaxterapi.

Om patienten inte uppvisar kliniska symtom men är seropositiv bör man upprepa den serologiska analysen för att på så sätt konfirmera diagnostiken. Man bör också genomföra en allmän klinisk undersökning med laboratorieundersökningar baserat på blodprov var tredje-till sjätte månad. Behandling rekommenderas inte, men man bör tänka på profylaxterapi om hunden ska resa till eller vistas i ett endemiskt område.

<sup>5</sup> IRIS International Renal Interest Society

**OBS!** Man rekommenderar alltid serologi, eller i kombination med PCR för att ta reda på om hunden är frisk. Endast PCR diagnostik anses inte räcka för detta ändamål.

## **Profylax**

### **Insekticider**

*Phlebotomus* myggor är aktiv vid gryning och skymning och hundarna bör då vistas inomhus. Man kan också minska de livsmiljöer som är gynnsamma för myggorna och där hundarna bor (Solano-Gallego et al., 2009). Myggorna föredrar fuktiga miljöer och gömmer sig i olika håligheter dagtid. Därför bör man ha släta väggar och undvika vattenpölar och andra vattensamlingar som exempelvis fontäner. Marken bör vara asfalterad för att undvika fuktighet och man bör minimera mängden organisk material som kan gynna mygglarvernas överlevnad (García Más et al., 2009). Man kan även använda insekticider som antigen sprids i miljön eller appliceras topikalt (spot-on) på hundarna (Solano-Gallego et al., 2009).

### **Vaccination**

Virbac har lanserat ett vaccin (CaniLeish) mot leishmanios och som finns registrerat hos European Medicines Agency 2011 (EMA) (<http://vet.virbac.es>). Hundar som vaccineras måste vara seronegativa (<http://www.ema.europa.eu>). Före vaccinationen rekommenderas därför att man utför serologisk test. Vaccinet kan ges till hundar från 6 månaders ålder och baseras på 3 subkutana injektioner som ges med tre veckors mellanrum. En boosterdos måste ges en gång om året för att upprätthålla vaccinets effekt. Virbac har även utvecklat en ELISA (Speed Leish K) med en sensitivitet på 98% och en specificitet på 100% (<http://www.my-virbac.co.uk/>).

Vaccinet har emellertid bieffekter. Hundarna kan antingen få måttliga och tillfälliga lokala reaktioner vid vaccinationsstället såsom svullnader, knölar (hårdning), smärta vid palpation och erytem (rodnad). Dessa reaktioner försvinner normalt spontant inom två dagar upp till två veckor. Andra temporära bieffekter som kan förekomma efter vaccinationen är hypertermi (förhöjd kroppstemperatur), apati (håglöshet) och matsmältningsbesvär som varar 1-6 dagar. Allergiska reaktioner är ovanliga och om en hund visar tecken på det, bör de ges lämplig symtomatisk behandling. Efter vaccinering kan man påvisa effekten med ett antikroppstest (<http://www.ema.europa.eu>).

Profylaxrekommendationerna gäller både för hundarna som bor eller som reser till endemiska områden. Vid återkomsten till hemlandet bör hunden träffa en veterinär för *Leishmania*-kontroll (Solano-Gallego et al., 2009).

## MATERIAL OCH METODER

Under två månader, september och oktober 2013 samlades totalt 20 journaler daterade mellan åren 1999 tills 2013 från patienter med leishmanios. Under den kliniska praktiken träffade jag dessutom 10 hundar och där var jag med och följde den kliniska bilden. Patienterna kom dels från UAB, dels från två privata smådjurskliniker. Hundar kunde däremot inte rekryteras från "perreras"<sup>6</sup> som planerat på grund av en ny policy. Där analyseras hundarnas blod med ett serologiskt snabbtest och om de är positiva för *L. infantum* avlivas de omedelbart. Staten vill inte riskera fortsatt spridning av sjukdomen eftersom hundarna i statliga "perreras" bor utomhus.

I detta arbete beskrivs 18 fall varav 16 åtföljs med data från kliniska undersökningar där man kortfattat kan följa hur djuren insjuknat, provsvar och hur de reagerade på behandling. De andra 4 patienter kunde jag inte följa upp på grund av att det var tid att åka tillbaka till Sverige och 8 journaler innehöll för få uppgifter. Vid UAB och de andra klinikerna som jag har besökt skrivs journalerna för hand och informationen visade sig i många fall vara väldigt kortfattad.

### Patientmaterial

Jag deltog i patienters allmänkliniska undersökning, blodprovtagning och vid kommunikation mellan veterinär och djurägare. Utrustning som användes var stetoskop, termometer, handskar, kanyler, sprutor, serum, EDTA rör och journalerna. Blodprov togs från *vena jugularis* som analyserades serologiskt med ELISA och med qPCR (se ovan).

### UABs hantering av patienter med CL

Leishmanios är en vanlig sjukdom för de veterinärer som arbetar vid UAB. Även om *Phlebotomus*myggor finns överallt oroar sig varken lokalbefolkningen eller turisterna för sjukdomen. Veterinärerna hanterar hundpatienter som har leishmanios precis som alla andra patienter. När patienten har lämnat undersökningsrummet desinfekterar veterinären undersökningsbordet med tvål och sprit. De djurägare som har varit på besök med sina hundar är också medvetna om vad leishmanios innebär och följer veterinärens ordination.

UABs olika diagnostiska metoder och tolkning:

- **Leishmania profil** där mäter man
  - **Totalprotein** för att se om det finns gammaglobulinemi eller hypoproteinemi
  - **BUN** (blood urea nitrogen) mäts för att uppskatta njurfunktion (azotemi)
  - **Kreatinin** för uppskattning av njurfunktion, azotemi, IRIS staging of CDK (chronic kidney disease)
  - **Kolesterol** för uppskattning av nefrotisk sjukdom (proteinuri, hypoalbuminemi, hyperkolesterolemi, ödem)
  - **ALAT** för att uppskatta hepatisk sjukdom

---

<sup>6</sup> plats ditt gatuhundar samlas inför vidare adoption/avlivning

- **Ratio P/C** för att uppskatta proteinuri, markör för en tidig njursvikt
- **Proteinogram** (elektrofores) där man kan mäta separat olika proteiner som albumin, alfa 1, alfa 2 beta och gamma. Man uppskattar en ökning eller sänkning av gammaprotein och albumin
- **Blodprov** där man vill se den vita blodbilden p.g.a. de sekundära infektionerna och röda bilden (CBC) för att se om djuret är anemiskt
- **Urinprov** för att uppskatta proteinuri och mäta urindensitet
- **Cytologi** vätska aspireras från olika kliniska fynd, ex. förstörade lymfknutor, man söker efter intracellulära amastigoter i makrofager
- **Serologi (ELISA indirekt)** Testet gör det möjligt att mäta antal antikroppar (IgG) som har bildats mot *Leishmania infantum* med hjälp av infekterat serum från patienten. Testet har en hög sensitivitet och specificitet samt tillåter kvantifiera nivån antikroppar och monitorera immunsvarets utveckling
- **Detektion av parastiten med PCR** UAB har utvecklat en TaqMan assay specifik för *L. infantum*. PCR används för att konfirmera sjukdom vid ett tveksamt eller lågt positivt ELISAs resultat och qPCR används också för att kunna följa behandlingsutveckling

## Referens intervall

### Hematologi

Hb	12-18 (g/dl)
LPK	6-17 ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ )
TPK	200-500 ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ )
Reticulocyter	0-60 ( $\times 10^3$ st)

### Klinisk kemi

Kreatinin	0,5-1,5 (mg/dl)
Urea	21,4-59,9 (mg/dl)
Totalkolesterol	135-270 (mg/dl)
ALAT	21-102 (UI/l)

### Urinprov

Proteinuri	positivt(+)/negativt(-)
------------	-------------------------

### Andra diagnostik

PCR	positivt(+)/negativt(-)
ELISAs	procent seropositivitet (tolkning se sida 8)

### Proteinogram (Elfores)

TP	5,4-7,1 (g/dl)
Albumin	2,6-3,3 (g/dl)
Alfa 1	0,2-0,5 (g/dl)
Alfa 2	0,3-1,1 (g/dl)
Beta	0,9-1,6 (g/dl)
Gamma	0,3-0,8 (g/dl)

## Fallbeskrivning

### Fall 1

**Signalement:** Blandrastik, född 2002.

**Anamnes:** Under våren 2006 insjukade hunden med PU/PD<sup>7</sup>, inappetens, lindrig förhöjd temp (39.3°C) samt alopeci kring ögonen under våren 2006.

**Diagnostisk plan:** Blodprov (hematologi och klinisk kemi), ELISA, PCR, proteinogram (Elfores) och urinprov.

Blodprovet visade lindrig anemi, normala leukocyter men vid första provtagningen hittades en lindrig eosinofili. Vid övriga provtagningar var dessa parametrar normala.

Serologi positivt för *Leishmania infantum* och det bedömdes som grad 2 leishmanios.

Proteinogram (Elfores) visade hypoalbuminemi och hyperglobulinemi. Behandlingen startades med glucantime och allopurinol.

**Behandlingssvar:** Initalt positivt behandlingssvar och djurets allmäntillstånd förbättrades. Vid första återbesöket hade PU/PD förbättrats och hunden hade börjat äta bättre. Alopecin kvarstod i stort oförändrad. Proverna vid återbesök visade förbättrat blodvärde, serologi och en ökning av albuminvärde vid elfores samt sjunkande gammaproteiner.

Efter andra återbesöket upplevde ägarna huden påtagligt piggare och ville inte att hunden skulle följas ytterligare. I oktober 2008 återkom problemen och då även med kräkningar. Vid undersökningen observerades en påtaglig uveit och njurvärde strax under normalintervallet, lindriga bleka slemhinnor och blodprov visade anemi. Hunden bedömdes som grad 3 och ny behandling startades med glucantime och allopurinol samtidigt behandlades uveiten topikalt.

Vid fortsatt uppföljning förbättrades initialt djuret men efter någon månad igen försämring. Tillkomst av sporadisk epistaxis, tilltagande inappetens och försämrade blodprover. Djuret avlivades i början av 2010.

Tabell 5. Hematologi, fall 1

	Jun -06	Ag -06	Dec -06	Okt -08	Nov -08	Jan -09	Maj -09	Sep -09	Jan -10
Hb	11,4	11,7	12,3	10,9	11,2	11,2	11,0	11,3	11,1
LPK	13,3 <sup>8</sup>	14,5	11,1	12,2	10,8	11,4	10,4	10,1	10,9
TPK	324	279	301	443	389	313	376	290	254
Retikulocyter	73	56				65			

<sup>7</sup> PU/PD = polyuri/polydipsi

<sup>8</sup> Normala LPK men diff visade eosinofili 2200 (ref: 100-1500)

Tabell 6. *Klinisk kemi, fall 1*

	<b>Jun -06</b>	<b>Ag -06</b>	<b>Dec -06</b>	<b>Okt -08</b>	<b>Nov -08</b>	<b>Jan -09</b>	<b>Maj -09</b>	<b>Sep -09</b>	<b>Jan -10</b>
Kreatinin	1,12	1,10	1,04	1,45	1,54	1,42	1,48	1,61	1,78
Urea	26,3	31,2	32,6	28,4	33,5	43,4	47,6	45,2	59,7
Totalkolesterol	126	143	155	210	197	232	245	212	225
ALAT	32	43	46	54	41	47	58	51	50

Tabell 7. *Diagnostik och urinalanalys, fall 1*

	<b>Jun -06</b>	<b>Ag -06</b>	<b>Dec -06</b>	<b>Okt -08</b>	<b>Nov -08</b>	<b>Jan -09</b>	<b>Maj -09</b>	<b>Sep -09</b>	<b>Jan -10</b>
Serologi	170	146	139	156	128	136	141	138	131
PCR		-							
Proteinuri	-	-		+	+	+	+	+	+

Tabell 8. *Proteinogram, fall 1*

	<b>Jun -06</b>	<b>Ag -06</b>	<b>Dec -06</b>	<b>Okt -08</b>	<b>Nov -08</b>	<b>Jan -09</b>	<b>Maj -09</b>	<b>Sep -09</b>	<b>Jan -10</b>
Tp	7,6	7,6	6,8	7,4	7,4	7,4	7,2	7,5	8,4
Albumin	1,8	2,1	2,8	1,5	2,1	2,3	2,3	2,2	1,6
Alfa 1	0,4	0,4	0,3	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,2
Alfa 2	0,9	1,0	0,9	0,7	0,7	0,8	0,7	0,7	0,8
Beta	1,7	1,7	1,5	1,9	1,6	1,5	1,5	1,5	1,7
Gamma	2,8	2,5	1,3	3,1	2,7	2,5	2,5	2,8	4,1

## Fall 2

**Signalement:** Boxertik, född 2003, utomhushund

**Anamnes:** Hunden var frisk t.o.m. året 2009, då inkommer med papillär dermatit, lindrigt förstörade submandibulära lymfknotor. Inget annat avvikande vid allmän klinisk undersökning.

**Diagnostisk plan:** Serologi för *L. infantum* var positiv 84%, alla andra prover inom normalintervallet, inklusive elfores. PCR utfördes inte. Patienten bedömdes som en grad 1 leishmanios och sattes in på allopurinol.

**Behandlingssvar:** Efter 3 månaders behandling var status oförändrat och proverna var normala. Ny serologi togs och den var positiv 67%. Oförändrad behandling.

Ytterligare 4 månader senare kommer djuret tillbaka med inappetens och en viktnedgång på 5,5 kg. Vid allmän klinisk undersökning hittades en knöl vid höger bakben  $\Phi$  5,5 cm. Cytologin visade pleomorfiska lymfocyter med nekros och de nytillkomna symtomen



bedömdes som det inte berodde på leishmanios utan att det rörde sig om lymfom. Ingen ytterligare utredning eller behandling gavs.

### Fall 3

**Signalement:** Schäferhane född 2002.

**Anamnes:** Hunden insjuknade 2005 med epistaxis. Vid klinisk undersökning noterades bleka slemhinnor, lindrig avmagring, vaskulitsår kring örontopparna.

**Diagnostiskt plan:** Blodprov (hematologi och klinisk kemi), ELISA, proteinogram (Elfores). Urinprov togs vid ett återbesök.

ELISA var positivt för leishmanios och proteinogrammet visade hyperglobulinemi. Behandling med glucantime och allopurinol startades. Hematologi visade anemi och leukopeni med eosinofili.

**Behandlingssvar:** Vid återbesök, en månad efter insatt behandling sågs en betydligt förbättring i vaskulitförändringarna såväl som i labproverna. Inga ytterligare näsblödningar. Det planerades för fortsatt uppföljning men ingen gjordes tills året 2008 då hunden kom in med en subkutan knöl. Knölen behandlades med antibiotika. Djurägaren ville avvakta och se om det förbättrades, ville inte ta biopsi som veterinären rekommenderade. Nytt återbesök en vecka efter antibiotikabehandlingen men besöket skedde aldrig och ingen vidare uppföljning angående leishmaniosis finns.

Tabell 9. Hematologi, fall 3

	<b>Maj -05</b>	<b>Jun -05</b>	<b>Jul -08</b>
Hb	8,9	11,9	11,6
LPK	5 <sup>9</sup>	10,9	8,2
TPK	185	304	263
Retikulocyter	54	71	49

Tabell 10. Klinisk kemi, fall 3

	<b>Maj -05</b>	<b>Jun -05</b>	<b>Jul -08</b>
Kreatinin	0,75	0,99	1,22
Urea	14,9	24,5	49,6
Totalkolesterol	254	179	242
ALAT	21	27	34

<sup>9</sup> Leukopeni men eosinofili med 2069 (100-1500)

Tabell 11. *Diagnostik och urinalys, fall 3*

	<b>Maj -05</b>	<b>Jun -05</b>	<b>Jul -08</b>
Serologi	120		57
Proteinuri			+

Tabell 12. *Mätdata från proteinogram, fall 3*

	<b>Maj -05</b>	<b>Jun -05</b>	<b>Jul -08</b>
Tp	8,5	7,8	8,2
Albumin	2,4	2,8	3,4
Alfa 1	0,3	0,2	0,3
Alfa 2	1,2	1,1	1,4
Beta	2,3	2,1	2,1
Gamma	2,3	1,6	1,0

#### Fall 4

**Signalement:** Blandrastik, född 2002, utomhushund

**Anamnes:** Hunden bodde med tre andra hundar. Året 2005 fick hon nedsatt AT och lindrig avmagring. Vid klinisk undersökning hittades en noduli med  $\Phi$  0.5 cm i höger axil, en unilateral högersidig konjunktivit och en temp 39.5°C.

**Diagnostisk plan:** Blodprov (hematologi och klinisk kemi), serologi, urinprov och proteinogram (Elfores).

Hunden hade en lindrig anemi och en lindrig proteinuri. Det fanns även en mikroskopisk hematuri. Det togs en biopsi från knölen som visade bl.a. makrofager infekterade med intracellulära amastigoter. Det bedömdes som leishmanios grad 3 och kombinationsbehandling med glucantime och allopurinol startades. På grund av proteinutsöndringen från njurarna gavs även Renitec (Enalapril, ACE-hämmare).

**Behandlingssvar:** Labmässigt sågs en normalisering av beta- och gammaproteinerna samt en lindrig albuminökning. Blodvärdet förbättrades under hela tiden. Patienten hade en icke regenerativ anemi och AT normaliserades under behandlingen.

Vid en klinisk undersökning i slutet av december 2006 (inga prover togs) upptäcktes ett obehag vid palpation kring halsområdet. Veterinären utförde en endoskopi och hon hittade en hypertrofierad tonsill. Det gjordes en biopsi och man såg en granulomatös förändring som misstänks vara sekundärt till leishmanios. Ytterligare en kur glucantime gavs och de kliniska symptomen avtog.

Slutet av 2012 vid kontroll uppmärksammas bilateral granulomatös uveit, prover visar dock inga amastigoter. Topikal behandling för ögonen satts in.

Tabell 13. *Hematologi, fall 4*

	Sep -05	Okt -05	Mar -06	Maj -07	Dec -07	Jul -08	Sep -09	Dec -12
Hb	10,7	11,2	11,1	11,7	11,4	11,5	11,4	11
LPK	9,6	13,8	9,3	10,4	8,3	12,4	12,6	17,9
TPK	234	445	430	386	260	212	223	118
Retikulocyter		45,9						47,8

Tabell 14. *Klinisk kemi, fall 4*

	Sep -05	Okt -05	Mar -06	Maj -07	Dec -07	Jul -08	Sep -09	Dec -12
Kreatinin	1,17	1,37	1,19	1,22	1,12	1,47	1,15	1,19
Urea	45,7	32,4	28,7	46,4	23,5	48,5	55	52
Totalkolesterol	197	223	219	249	245	168	212	278
ALAT	46	36	38	31	31	42	39	43

Tabell 15. *Diagnostik och urinanalys, fall 4*

	Sep -05	Okt -05	Mar -06	Maj -07	Dec -07	Jul -08	Sep -09	Dec -12
Serologi	169	136		132		203	174	146
Proteinuri	+	+				+	+	

## Fall 5

**Signalement:** Blandrashona, född 2008.

**Anamnes:** Året 2012 insjuknade hunden med uveit, höger öga. Hunden hade haft lindrig inappetens. Inget annat avvikande.

**Diagnostiskt plan:** Blodprov (hematologi och klinisk kemi), serologi, urinprov och proteinogram (Elfores) togs.

Tabell 16. *Mätdata från proteinogram fall 4*

	Sep -05	Okt -05	Mar -06	Maj -07	Dec -07	Jul -08	Sep -09	Dec -12
Tp	7,0	6,9	6,8	7,1	6,6	6,8	6,8	7,4
Albumin	2,9	3,1	3,3	3,4	3,3	3,4	3,2	3,0
Alfa 1	0,3	0,2	0,2	0,3	0,3	0,3	0,2	0,3
Alfa 2	0,9	1,1	1,0	1,0	1,0	0,9	1,2	2,0
Beta	1,7	1,6	1,6	1,8	1,4	1,5	1,5	1,4
Gamma	1,2	0,9	0,7	0,6	0,6	0,7	0,7	0,7

Serologin var positiv för leishmanios därför gjordes ett proteinogram. Behandling startades med glucantime och allopurinol samt topikal behandling för ögat.

**Behandlingssvar:** Vid första återbesöket efter behandlingsstart hade patientens gammaproteiner sjunkit signifikant. Prover förbättrades. Efter det har trenden fortsatt och djuret var vid senaste återbesöket, oktober 2013 symtomfritt och inget avvikande upptäcktes vid kliniska undersökningen. Patienten planeras åter under andra trimestern 2014.

Tabell 17. *Hematologi, fall 5*

	<b>Okt -12</b>	<b>Nov -12</b>	<b>Mar -13</b>	<b>Okt -13</b>
Hb	10,2	11,4	11,8	11,8
LPK	12,2	15,4	9,7	11,1
TPK	195	224	430	321
Retikulyocyter	74,5			

Tabell 18. *Klinisk kemi, fall 5*

	<b>Okt -12</b>	<b>Nov -12</b>	<b>Mar -13</b>	<b>Okt -13</b>
Kreatinin	0,75	0,77	0,84	0,77
Urea	23,4	27,5	21,0	32,2
Totalkolesterol				
ALAT	34	37	29	27

Tabell 19. *Diagnostik och urinanalys, fall 5*

	<b>Okt -12</b>	<b>Nov -12</b>	<b>Mar -13</b>	<b>Okt -13</b>
Serologi	182	123		138
Proteinuri	-			

Tabell 20. *Mätdata från proteinogram fall 5*

	<b>Okt -12</b>	<b>Nov -12</b>	<b>Mar -13</b>	<b>Okt -13</b>
Tp	10,0	8,6	7,7	7,3
Albumin	2,1	2,6	2,8	2,8
Alfa 1	0,2	0,2	0,2	0,3
Alfa 2	0,3	0,5	0,7	0,8
Beta	1,9	1,7	1,6	1,6
Gamma	5,4	3,6	2,4	1,8

## Fall 6

**Signalement:** Blandrastik, född 2004, utomhusboende.

**Anamnes:** Hunden insjukade året 2006 med seborré över ryggen och alopeci kring ögonen. Vid klinisk undersökning upptäcktes att muskelmassan var lindrigt atrofierad.

**Diagnostisk plan:** Blodprov (hematologi och klinisk kemi), urinprov, serologi och proteinogram (Elfores). Vid senare återbesök utfördes PCR.

Blodprovresultat visade en icke regenerativ anemi, hypoalbuminemi och proteinogram visade en hypergammaglobulinemi. Det påbörjades en behandling med glucantime och allopurinol.

**Behandlingssvar:** Vid återbesök efter en månads behandling hade blodprovresultaten förbättrades. Vid återbesök året 2008 sågs hyperemisk slemhinna i munnen och seborré hade spridits runt kropp. Patienten fick en ytterligare behandling med glucantime och allopurinol även fast blodproverna var normala. Därefter finns ingen ytterligare uppföljning registrerad.

Tabell 21. *Hematologi, fall 6*

	Jun -06	Jul -06	Dec -06	Jul -07	Jan -08	Nov -08
Hb	11,4	12,2	11,9	11,4	12,3	12,1
LPK	7,5	8,0	14,1	9,3	8,1	8,7
TPK	213	257	317	299	362	391
Retikulocyter	46,8					

Tabell 22. *Klinisk kemi, fall 6*

	Jun -06	Jul -06	Dec -06	Jul -07	Jan -08	Nov -08
Kreatinin	1,05	0,97	1,17	1,12	1,12	1,09
Urea	32,1	36,2	28,9	30,7	31,0	34,5
Totalkolesterol	310	276	251	273	260	264
ALAT	61	57	57	54	60	59

Tabell 23. *Diagnostik och urinanalys, fall 6*

	Jun -06	Jul -06	Dec -06	Jul -07	Jan -08	Nov -08
Serologi	112	86	75	115	111	93
PCR		-				-
Proteinuri	-					

Tabell 24. Mätdata från proteinogram fall 6

	Jun -06	Jul -06	Dec -06	Jul -07	Jan -08	Nov -08
Tp	9,7	7,6	6,8	6,7	6,8	6,5
Albumin	2,5	3,1	3,9	4,0	3,8	3,7
Alfa 1	0,5	0,5	0,7	0,6	0,3	0,4
Alfa 2	0,6	0,5	0,3	0,4	0,7	0,6
Beta	2,5	1,8	1,1	1,1	1,4	1,2
Gamma	3,6	1,7	0,8	0,6	0,6	0,6

## Fall 7

**Signalement:** Pointerhane, född 2005.

**Anamnes:** Han insjuknade året 2009. Symtomen var PU/PD, inappetens, avmagring. Vid klinisk undersökning noterades något bleka slemhinnor, förstörd höger poplitealymfknutan och muskelatrofi.

**Diagnostisk plan:** Blodprov (hematologi och klinisk kemi), urinprov, serologi, PCR och proteinogram (Elfores).

Vid urinalanalys, förutom proteinuri fanns även blod i urinen. Behandlingen med glucantime, allopurinol och njurfoder startades.

**Behandlingssvar:** Proteinogram började förbättras till första återbesöket men patienten hade inte gått upp i vikt och hade fortfarande dålig aptit. Hematurin och proteinurin fortsatte och veterinären hade misstanke om glomerulonefrit. Ingen påverkan på kreatininet. Veterinären bedömde att man borde avvakta resultatet av behandling och inget ytterligare gjordes. Vid nästkommande återbesök har djuret tappat ytterligare 1.5 kg. Pga det generellt dåliga allmäntillståndet man tog beslutet om avlivning.

Tabell 25. Hematologi, fall 7

	Jul -09	Ag -09	Dec -09
Hb	10,8	11,2	11,2
LPK	6,3	7,4	7,1
TPK	176	194	182
Retikulocyter	42,7		

Tabell 26. Klinisk kemi, fall 7

	Jul -09	Ag -09	Dec -09
Kreatinin	0,76	0,84	1,41
Urea	61,2	58,5	66,7
Totalkolesterol	471	397	388
ALAT	52	64	68

Tabell 27. Diagnostik och urinalys, fall 7

	Jul -09	Ag -09	Dec -09
Serologi	206	194	214
PCR	-		
Proteinuri	+	+	+

Tabell 28. Mätdata från proteinogram fall 7

	Jul -09	Ag -09	Dec -09
Tp	7,4	6,3	6,3
Albumin	1,7	1,8	1,7
Alfa 1	0,2	0,2	0,2
Alfa 2	1,9	1,4	1,2
Beta	2,4	2,4	2,3
Gamma	1,2	0,5	0,9

## Fall 8

**Signalement:** Cockerspanielhane, född 2003.

**Anamnes:** Hunden hade haft symtom sedan en vecka (2009). Djuret hade börjat med diarrer ett par gånger per dag, men efter några dagar diarréerna var blodtillblandat. Dagen när de sökte hjälp hade besvären tilltagit och under natten hade djuret haft 6 påtagligt blodiga diarrer. Det framkom att djuret hade haft vid något tillfälle epistaxis. Vid undersökning ses ett djur med medsatt AT som inte vill gå, djuret är dehydrerat och har en temp på 39,3<sup>0</sup>C. Uttalad alopeci runt ögon men även mot öronen. Loppor hittades.

**Diagnostisk plan:** Blodprov (hematologi och klinisk kemi) och serologi gjordes.

I blodprovet ses en leukocytos, trombocytopeni, en eosinofili och högt kreatinin. Serologi var högt positivt för *Leishmania infantum* och PCR var också positivt.

**Behandlingssvar:** Djuret fick stanna kvar och man gav vätska i.v. Dagen efter vid förnyad provtagningar hade kreatinin sjunkit till 2,1 och Hb till 10,3. Man såg även en påtaglig hälta vid gång. Efter 2 dagars ineliggande vård utan någon förbättring beslutade ägarna att avliva djuret.

## Fall 9

**Signalement:** Blandrashane, född 2006.

**Anamnes:** Vid 4 månaders ålder fick hunden en papillär dermatit. Inget annat avvikande.

**Diagnostisk plan:** Blodprov (hematologi och klinisk kemi), serologi och proteinogram (Elfores). Urinprov och PCR analyserades vid senare återbesök.

Serologin var svagt positiv för *Leishmania infantum* och sjukdomen bedömdes som grad 1. Alla andra parametrarna var normala. Behandling med allopurinol startades i 6 månader.

**Behandlingssvar:** Antikroppshalten sjunker kraftigt fram tills december 2007. Februari 2010 kommer patienten för en knöl i vänster baktass. Biopsi togs som visade ett hygrom med benign mineraliserad avkapsling. Vid allmän klinisk undersökning hittades förstörade submandibular lymfknutor och i kombination med hypergammaglobulinemi föranledde det behandling med glucantime och allopurinol. Vid nästa återbesöket konstaterades att patienten förbättrades snabbt. Återbesök planerades men har inte blivit av, det sista återbesöket som registrerades i journalen var året 2011.

Tabell 29. Hematologi, fall 9

	Sep -06	Feb -10	Mar -10	Okt -10	Apr -11
Hb	14,1	12,2	12,8	12,4	13,2
LPK	8,4	11,6	7,1	15,4	12,0
TPK	327	216	256	311	279

Tabell 30. Klinisk kemi, fall 9

	Sep -06	Feb -10	Mar -10	Okt -10	Apr -11
Kreatinin	0,57	1,0	1,22	1,20	1,19
Urea	28,3	24,6	49,0	38,7	41,5
Totalkolesterol	251	185	211	209	191
ALAT	36	32	32	38	39

Tabell 31. Diagnostik och urinanalys, fall 9

	Sep -06	Nov -06	Jun -07	Dec -07	Feb -10	Mar -10	Okt -10	Apr -11
Serologi	58	52	18	29	270	187	209	162
PCR					+	+	-	
Proteinuri					-	-	-	-

Tabell 32. Mätdata från proteinogram fall 9

	Sep -06	Nov -06	Jun -07	Dec -07	Feb -10	Mar -10	Okt -10	Apr -11
Tp	5,8	5,9	5,8	5,7	7,1	6,8	6,4	6,4
Albumin	3,2	3,4	3,3	3,3	2,1	2,9	3,0	3,1
Alfa 1	0,3	0,3	0,3	0,3	0,2	0,3	0,3	0,2
Alfa 2	0,5	0,4	0,4	0,4	1,3	1,2	0,9	1,0
Beta	1,1	1,1	1,2	1,1	1,7	1,4	1,4	1,3
Gamma	0,7	0,7	0,6	0,6	1,8	1,0	0,8	0,8



## Fall 10

**Signalement:** Siberian huskyhona, född 2006.

**Anamnes:** Vid 2 års ålder insjuknade med en papillär dermatit. Vid undersökningen hittades inget avvikande.

**Diagnostisk plan:** Blodprov (hematologi och klinisk kemi), urinprov och proteinogram (Elfores).

Blodprovsresultat var normalt. Serologi var svagt positiv för leishmanios. Behandling med allopurinol 6 månader.

**Behandlingssvar:** Vid återbesök analyseras bara serologi och proteinogram. Hunden mår bra till mars 2011 då den fick problem med analsäckarna. Veterinären fick tömma dem, spolades och hunden fick antibiotika. Veterinären tog ett blodprov för att kontrollera leishmaniosstatus då serologin visade måttligt positivt men inget annat avvikande hittades vid allmän klinisk undersökning. Ny kur med allopurinol.

Tabell 33. Hematologi, fall 10

	Jan -08	Mar -11
Hb	14,9	14,3
LPK	9,5	15,0
TPK	271	345

Tabell 33. Hematologi, fall 10

	Jan -08	Mar -11
Kreatinin	0,96	1,01
Urea	24,1	26,4
Totalkolesterol	248	222
ALAT	32	32

Tabell 35. Diagnostik och urinalys, fall 10

	Jan -08	Jul -08	Feb -09	Jul -09	Jun -10	Mar -11	Nov -11	Jun -12	Jun -13
Serologi	70	83	55	57	86	122	91	64	81
Proteinuri	-					-			

Tabell 36. Mätdata från proteinogram fall 10

	Jan -08	Jul -08	Feb -09	Jul -09	Jun -10	Mar -11	Nov -11	Jun -12	Jun -13
Tp	7,2	6,6	7,1	7,1	6,4	6,5	6,5	6,3	6,3
Albumin	3,6	3,4	3,8	4,0	3,6	3,3	3,3	3,2	3,3
Alfa 1	0,3	0,4	0,4	0,3	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
Alfa 2	1,0	0,8	0,8	0,9	0,8	0,9	0,9	0,8	0,8
Beta	1,6	1,4	1,5	1,3	1,0	1,2	1,2	1,3	1,2
Gamma	0,7	0,6	0,6	0,6	0,6	0,7	0,7	0,6	0,6

## Fall 11

**Signalement:** Schäferhane, född 1999.

**Anamnes:** Hunden insjuknade med feber och kräkningar året 2007.

**Diagnostiskt plan:** Blodprov (hematologi och klinisk kemi), serologi och proteinogram (Elfores).

Prover visade serologi för leishmanios högt positivt och proteinogram lindrigt hypergammaglobulinemi. Behandlingen startades med glucantime och allopurinol.

**Behandlingssvar:** Återbesök i december 2007 hade hunden minskat 2 kg i vikt men inget annat avvikande vid undersökningen. Ny behandlingsomgång med glucantime och allopurinol. Därefter förbättrades proverna. Under 2008 opererade man bort en liten cysta på ena tassens på misstanke om kutan manifestation av sjukdomen. PAD visade benign förändring. Djuret genomgick även ett ultraljud av buken. Man såg en misstänkt leverlipidos men de andra organ var utan anmärkning. Blodproverna normaliserades och serologi var måttligt positiv. Därefter finns det inte mer journalfört och oklart vad som skett.

Tabell 37. Hematologi, fall 11

	Mar -07	Dec -07	Jan -08	Mar -08	Nov -08
Hb	16,1	18,4	17,7	18,2	
LPK	25,6 <sup>10</sup>	10,1	11,3	10,3	
TPK	198	194	258	270	

Tabell 38. Klinisk kemi, fall 11

	Mar -07	Dec -07	Jan -08	Mar -08
Kreatinin	1,16		1,29	1,29
Urea	26,1		34,9	34,9
Totalkolesterol	197		251	251
ALAT	37		33	33

<sup>10</sup> Neutrofili (ref: 22,8), normala eosinofilvärde

Tabell 39. *Diagnostik, fall 11*

	<b>Mar</b>	<b>Dec</b>	<b>Jan</b>	<b>Mar</b>	<b>Nov</b>
	<b>-07</b>	<b>-07</b>	<b>-08</b>	<b>-08</b>	<b>-08</b>
Serologi	166	225	153	115	84

Tabell 40. *Mätdata från proteinogram fall 11*

	<b>Mar</b>	<b>Dec</b>	<b>Jan</b>	<b>Mar</b>	<b>Nov</b>
	<b>-07</b>	<b>-07</b>	<b>-08</b>	<b>-08</b>	<b>-08</b>
Tp	7,6	7,3	7,3	7,4	6,9
Albumin	3,7	3,6	3,8	3,6	3,4
Alfa 1	0,2	0,2	0,2	0,3	0,3
Alfa 2	1,1	1,0	1,1	1,1	1,0
Beta	1,4	1,4	1,4	1,7	1,4
Gamma	1,2	1,1	0,8	0,7	0,8

## Fall 12

**Signalement:** Blandrastik, född 2004.

**Anamnes:** Hunden fick leishmanios vid 2 års ålder. Symtomen var avmagring och nedsatt AT. Hon hade fått seborré. Detta började ca 6 månader före de andra symtomen. Först fick hon bara på huvudet men sedan spred det sig över den dorsala delen, därefter till resten av kroppen. Vid den kliniska undersökningen hittades inget övrigt avvikande.

**Diagnostisk plan:** Blodprov (hematologi och klinisk kemi), urinprov, serologi och proteinogram (Elfores).

Blodprover visade lindrig anemi, hypergammaglobulinemi och hypoalbuminemi. Det bedömdes som en grad 2 leishmanios och behandlingen med glucantime och allopurinol startades.

**Behandlingssvar:** Hon svarade bra på behandlingen men man förlängde allopurinolbehandling till ett år då mjällproblematiken fortsatte. Efter har hon mått bra och veterinären bedömde henne som klinisk frisk efter nästan 2 år. Därefter har hon gått på årliga kontroller utan att man hittat något avvikande på prover eller vid klinisk undersökning. November 2013 togs blodprov för serologi men svaret kom inte innan jag återvände till Sverige.

Tabell 41. *Hematologi, fall 12*

	<b>Maj</b>	<b>Jun</b>	<b>Jan</b>	<b>Jan</b>	<b>Feb</b>	<b>Jan</b>	<b>Jan</b>	<b>Mar</b>	<b>Jan</b>
	<b>-06</b>	<b>-06</b>	<b>-07</b>	<b>-08</b>	<b>-09</b>	<b>-10</b>	<b>-11</b>	<b>-12</b>	<b>-13</b>
Hb	10,9	11,1	13,2	13,0	14,2	13,7	13,3	13,3	13,9
LPK	6,2	8,5	8,2	8,9	10,4	8,0	7,7	9,5	8,6
TPK	179	253	275	254	258	423	281	322	301
Retikulocyter	42,7	67,8							

Tabell 42. *Klinisk kemi, fall 12*

	<b>Maj -06</b>	<b>Jun -06</b>
Kreatinin	0,82	0,93
Urea	23,7	29,1
Totalkolesterol	345	311
ALAT	43	52

Tabell 43. *Diagnostik och urinalanalys, fall 12*

	<b>Maj -06</b>	<b>Jun -06</b>	<b>Jan -07</b>	<b>Jan -08</b>	<b>Feb -09</b>	<b>Jan -10</b>	<b>Jan -11</b>	<b>Mar -12</b>	<b>Jan -13</b>
Serologi	60	60	76	55	48	50	62	47	53
Proteinuri	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabell 44. *Mätdata från proteinogram fall 12*

	<b>Maj -06</b>	<b>Jun -06</b>	<b>Jan -07</b>	<b>Jan -08</b>	<b>Feb -09</b>	<b>Jan -10</b>	<b>Jan -11</b>	<b>Mar -12</b>	<b>Jan -13</b>
Tp	7,4	7,3	6,0	6,3	6,4	5,9	6,2	6,0	6,0
Albumin	2,2	2,9	3,1	3,1	3,6	3,2	3,4	3,1	3,2
Alfa 1	0,2	0,2	0,2	0,3	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2
Alfa 2	0,4	0,6	0,6	0,6	0,5	0,5	0,6	0,6	0,6
Beta	1,8	1,5	1,4	1,5	1,4	1,4	1,3	1,5	1,4
Gamma	2,8	2,1	0,7	0,8	0,6	0,6	0,7	0,6	0,6

### Fall 13

**Signalement:** Blandrashane som adopterades, tidigare varit gatuhund, oklar ålder.

**Anamnes:** Vid adoptionen blev djurägaren informerad att hunden var sjuk. Nya ägaren tog honom till veterinären i mars 2013 och vid klinisk undersökning noterade man att djuret var magert, hade bilateral konjunktivit, uttalad seborré, onychogryfosis, bleka slemhinnor och nedsatt allmäntillstånd. Med tanke på symtombilden och att Blacky varit en gatuhund, stark misstanke om leishmanios.

**Diagnostisk plan:** Serologisk undersökning genomfördes som visade hög antikroppshalt. Behandling startades med glucantime, allopurinol och topikal behandling för ögonen.

**Behandlingssvar:** En månad senare vid första återbesöket berättade djurägaren att hunden hade börjat äta bättre. Den hade gått upp i vikt, 1 kg men bilateral konjunktivit och seborré fortsatte. Hundens allmäntillstånd hade förbättrats. De fick fortsätta med samma behandling, inga blodprovs togs då djurägaren inte ville. Efter fem månader kommer Blacky tillbaka med tachypné med för övrigt lik symtombild. Av ekonomiska skäl görs ingen vidare utredning utan djuret avlivades.



Bild 7. Blacky, hunden från fall 13.  
Bild: Sabrina Casales Hannsberger

#### Fall 14

**Signalement:** Schäferhane, född 2008 som fungerade som vakthund och därav bodde utomhus.

**Anamnes:** Vid 3 års ålder hade hunden aggressiva tendenser och togs till veterinär för avlivning. Där upptäcktes en hälta och förstörade submandibulära lymfknotor.

**Diagnostisk plan:** Blodprov (hematologi och klinisk kemi), urinprov, serologi och proteinogram (Elfores).

Proverna visade lindrig anemi och serologi för leishmanios var måttligt positiv. Behandling sattes in med glucantime och allopurinol.

**Behandlingssvar:** Djuret svarade bra på behandling och det aggressiva beteendet avtog samtidigt som hälтан. Det aggressiva beteendet bedömdes som sekundärt till smärta från lederna. Efter det följdes patienten upp och vid senaste besöket uppvisades inget avvikande vid klinisk undersökning.

Tabell 45. Hematologi, fall 14

	Sep -11	Nov -11	Mar -12	Sep -12	Apr -13
Hb	10,2	12,3	14,5	14,0	14,3
LPK	14,3	12,2	16,6	15,3	11,6
TPK	275	398	371	313	423

Tabell 46. Klinisk kemi, fall 14

	Sep -11	Nov -11	Mar -12	Sep -12	Apr -13
Kreatinin	0,74	0,92	1,13	1,05	1,05
Urea	24,5	49,8	42,4	36,9	33,5
Totalkolesterol	438	396	412	402	374
ALAT	62	67	65	62	64

Tabell 47. *Diagnostik och urinanalys, fall 14*

	Sep -11	Nov -11	Mar -12	Sep -12	Apr -13
Serologi	141	95	113	105	111
Proteinuri	-	-	-	-	-

Tabell 48. *Mätdata från proteinogram fall 14*

	Sep -11	Nov -11	Mar -12	Sep -12	Apr -13
Tp	7,3	6,9	6,8	5,7	5,7
Albumin	2,5	2,8	3,0	2,8	2,8
Alfa 1	0,3	0,4	0,4	0,4	0,3
Alfa 2	0,5	0,7	0,7	0,6	0,7
Beta	2,1	1,7	1,2	1,2	1,2
Gamma	1,9	1,3	0,7	0,6	0,7

## Fall 15

**Signalement:** Blandrastik, född 2008.

**Anamnes:** Hunden diagnostiserades med leishmanios året 2012. Hon behandlades med glucantime och allopurinol. Djurägaren följde inte rekommendationerna om återbesök efter första behandlingen. Efter ett år, våren 2013, fick hon återfall med alopeci, seborré, dermatit och vaskulit kring öronen.

**Diagnostisk plan:** Blodprov (hematologi och klinisk kemi), urinprov, serologi, proteinogram (Elfores).

Ny serologi visade måttligt positiv för CL och proteinogram visade hypergammaglobulinemi. Behandling med glucantime och allopurinol startades.

**Behandlingssvar:** I oktober 2013 hade patienten förbättrats provmässigt men kliniskt hade hon kvar lindrig alopeci på en baktass, dermatit i ansikte, och lindrig vaskulit runt öronen.



Bild 7. Puxi en 5 år gammal tik från fall 15. Bild: Sabrina Casales Hannsberger.

Tabell 49. *Hematologi, fall 15*

	Okt -12	Maj -13	Jun -13	Okt -13
Hb	12,9	11,8	12,3	12,6
LPK	8,7	14,6	11,3	11,8
TPK	481	435	388	406

Tabell 50. *Klinisk kemi, fall 15*

	<b>Maj</b>	<b>Jun</b>	<b>Okt</b>
	<b>-13</b>	<b>-13</b>	<b>-13</b>
Kreatinin	1,32	1,26	1,21
Urea	43,2	34,8	42,3
Totalkolesterol	157	178	129
ALAT	43	48	48

Tabell 51. *Diagnostik och urinanalys, fall 15*

	<b>Okt</b>	<b>Maj</b>	<b>Jun</b>	<b>Okt</b>
	<b>-12</b>	<b>-13</b>	<b>-13</b>	<b>-13</b>
Serologi	190	126	95	70
Proteinuri		-	-	-

Tabell 52. *Mätdata från proteinogram fall 15*

	<b>Okt</b>	<b>Maj</b>	<b>Jun</b>	<b>Okt</b>
	<b>-12</b>	<b>-13</b>	<b>-13</b>	<b>-13</b>
Tp	6,4	6,8	6,5	6,1
Albumin	3,1	2,6	2,8	2,8
Alfa 1	0,4	0,3	0,4	0,4
Alfa 2	0,8	0,7	0,7	0,7
Beta	1,4	1,5	1,5	1,4
Gamma	0,7	1,7	1,1	0,8

## Fall 16

**Signalement:** Blandrastik, född 2005.

**Anamnes:** Hunden diagnostiserades med leishmanios året 2011. Symtomen var kräkningar, viktnedgång (från 23 kg till 18 kg) och feber (39,4°C).

**Diagnostisk plan:** Blodprov (hematologi och klinisk kemi), serologi och proteinogram (Elfores).

Serologi var positiv och hypergammaglobulinemi konstaterades i proteinogram. Hunden behandlades med glucantime och allopurinol.

**Behandlingssvar:** Hunden förbättrades men i mitten av 2013 fick hunden uveit och i samband med detta även anemi. Ny behandlingskur och topikal behandling av ögonen och konstaterades en förbättring.

Tabell 53. Hematologi, fall 16

	<b>Maj -11</b>	<b>Jun -11</b>	<b>Jan -12</b>	<b>Aug -13</b>	<b>Sep -13</b>
Hb	14,3	14,7	13,9	11,2	12,7
LPK	7,8	8,6	15,3	7,3	9,9
TPK	210	316	327	285	225

Tabell 54. Klinisk kemi, fall 16

	<b>Maj -11</b>	<b>Jun -11</b>	<b>Jan -12</b>	<b>Aug -13</b>	<b>Sep -13</b>
Kreatinin	1,34	1,19	1,17	1,12	1,23
Urea	28,3	23,5	27,4	23,6	28,5
Totalkolesterol	164	214	187	254	273
ALAT	43	40	34	34	37

Tabell 55. Diagnostik, fall 16

	<b>Maj -11</b>	<b>Jun -11</b>	<b>Jan -12</b>	<b>Sep -12</b>	<b>Apr -13</b>	<b>Aug -13</b>	<b>Sep -13</b>
Serologi	114	87	65	67	83	134	128

Tabell 56. Mätdata från proteinogram fall 16

	<b>Maj -11</b>	<b>Jun -11</b>	<b>Jan -12</b>	<b>Sep -12</b>	<b>Apr -13</b>	<b>Aug -13</b>	<b>Sep -13</b>
Tp	6,7	6,2	5,8	5,5	5,7	6,3	6,3
Albumin	3,1	3,2	3,1	3,1	2,9	2,6	3,0
Alfa 1	0,4	0,4	0,3	0,4	0,3	0,3	0,4
Alfa 2	0,6	0,7	0,7	0,5	0,5	0,5	0,6
Beta	1,5	1,3	1,3	1,1	1,3	1,3	1,3
Gamma	1,1	0,6	0,4	0,4	0,7	1,6	1,0

## Fall 17

**Signalement:** Labrador retrievertik, född 2010.

**Anamnes:** Hunden inkom i september 2013 med fem vitgråa matta pustler med en diameter på fyra millimeter i ljumsken. Djuret uppfattades även tröttare än normalt. Inget avvikande för övrigt på rutinprover eller vid undersökning.

**Diagnostisk plan:** Cytologi, blodprov (hematologi och klinisk kemi), serologi, PCR och proteinogram (Elfores).



Cytologi på vätskan från pustlerna visade makrofager infekterade med intracellulära amastigoter. Serologin för leishmanios togs och svaret var svagt positiv (48%). qPCR var också positivt för *Leishmania infantum*. Behandlingen med allopurinol startades.

**Behandlingssvar:** På återbesökt, i oktober 2013 efter en månads behandling hittades inga avvikelser, hunden var klinisk frisk. Veterinären tog ett blodprov för att se om serologin hade förändrats. Svaret var svagt positivt. Hunden får fortsätta med allopurinolbehandling tills nästa återbesökt. Veterinären avvaktar med glucantimebehandling för att det är en grad 1 leishmanios.

## Fall 18

**Signalement:** Weimaranhane, född 2007.

**Anamnes:** Hunden diagnostiserades med leishmanios 2009 då han hade fått en knöl i nacken. Vid undersökning hittades inget annat avvikande

**Diagnostisk plan:** Blodprov (hematologi och klinisk kemi), cytologi, serologi och proteinogram (Elfores).

Cytologin visade intracellulära amastigoter i makrofagerna och proteinogram visade hypergammaglobulinemi samt serologin var måttligt positiv. De andra blodparametrarna var normala. Behandling med glucantime och allopurinol startade.

**Behandlingssvar:** Vid första återbesök tog veterinären blodprov och gammaglobulinerna normaliserades. Inga förnyade symtom från hunden och han bedömdes vara kliniskt frisk. Återbesöken upphörde utan förklaring.

Tabell 57. Mätdata från proteinogram fall 18

	Jan -09	Feb -09	Jul -09	jan -10	Dec -10
Tp	6,8	6,2	6,2	6,3	6,2
Albumin	3,0	3,5	3,2	3,3	3,3
Alfa 1	0,5	0,4	0,5	0,5	0,4
Alfa 2	0,8	0,7	0,8	0,8	0,8
Beta	1,3	1,1	1,1	1,2	1,2
Gamma	1,2	0,5	0,6	0,5	0,5

## RESULTAT

Av de 18 patienterna som deltog i leishmaniosstudien var 9 blandraser. Bland de renrasiga hundarna var tre schäfrar samt vardera en boxer, pointer, cockerspaniel, siberian husky, labrador retriever och weimaran.

Patienterna uppvisade 21 olika kliniska symptom. Uppgifterna som har använts nedan är från första besöket hos veterinären. Bland de 18 patienterna hade två polyuri/polydipsi, tre inappetens, fem förhöjd temperatur, tre alopeci, fyra papilär dermatit, tre förstorade lymknutor, två epistaxi, tre bleka slemhinnor, tre nedsatt allmäntillstånd, en blodig diarrée, två kräkningar, två muskelatrofi, fyra seborré, sex avmagring, två vaskulitsår kring öronen, två konjunktivit, två knöl, två uveit, en onychogryfosis och en dermatit. Förutom en hund som adopterades och där oklarhet råder om dess tidigare sjukdomsstatus, var alla hundar friska innan de debuterade med CL. I medeltal sågs 3,3 tecken på sjukdom. Inget av de nämnda sjukdomstecknen fanns dock hos samtliga patienter.

Patienterna har också kategoriserats beroende på resultaten från laboratorieundersökningen. Även i detta fallet är uppgifterna från det första veterinärbesöket registrerat i journalerna. Av de 18 hundarna hade sju hypoalbuminemi, 11 hyperglobulinemi, nio högt TP, nio anemi, en lågt kolesterol, fyra högt kolesterol, vardera en med lågt urea respektive högt urea, en högt kreatinin, fem trombocytopeni, två leukocytos, en leukopeni, en neutrofili, tre eosinofili, två hematuri, tre proteinuri. Samtliga hundar var serologisk positiva för leishmanios.

Av de 18 patienterna avlivades fem hundar. Ett fall avlivades på grund av att hunden hade lymfom, fyra fall avlivades på grund av CL, två fall på grund av komplikationer och två på grund av kostnadsskäl. Uppföljningen på fem patienter kunde inte fullföljas då de inte återkom till kliniken.

## DISKUSSION

Enligt Solano-Gallego et al., (2011) saknas symptom eller undersökningsresultat som är patognomoniskt för CL. Detta bekräftas till fullo av mina studieresultat. Samtidigt påträffades ett stort antal kliniska symptom som var associerade med CL och som beskrivs i detalj i litteraturöversikten (tabell 1). Det råder alltså ingen tvekan om att vart och ett av dessa kan vara kopplade till sjukdomen.

Enligt laboratorieresultaten hade de flesta patienterna leukocytos, hypoalbuminemi, hypergammaglobulinemi och högt totalprotein i serum. Problemet är att inget av dessa är specifikt för CL (tabell 2).

Fyra hundar (fall 1, 7, 8 och 13) avlivades på grund av komplikationer till följd av leishmanios. Två av dessa (fall 8 och 13) skulle kunna ha behandlats under längre tid, men då behandlingar och veterinärbesök är dyrbara togs beslutet om avlivning. Fem fall (3, 6, 9, 11, 18) följdes av oklar anledning aldrig upp. Antingen tillfrisknade dessa hundar tillfälligt eller så bytte djurägarna veterinär. I mitt material finns flera exempel på fall där hundarna (fall 1, 3, 4, och 9) inte haft någon uppföljning på några år, för att därefter åter få symtom. Detta

visar att det är viktigt att fortsätta med regelbunden uppföljning även om hunden är asymtomatisk. Detta för att tidigt fånga upp en försämring och snabbt kunna starta upp behandling. Annat exempel är fall 12 som bedömdes som leishmanios grad 2 och det visar att med en korrekt behandling och uppföljning kan hunden återhämta sig och förbli symtomfri.

Endast i ett fall saknas uppgifter om hundens ålder (fall 13). De flesta hundar (12 av 17 fall) visade tecken på leishmanios i relativt ung ålder, då de var mellan två och fyra år. Det är omöjligt att veta när hundarna infekterades eftersom man vet att infektionen ofta förlöper subkliniskt upp till sju år utan att för den skull uppvisar tecken på sjukdom (Shaw, 1991).

Vilka diagnostiska prover som togs varierar väldigt mycket mellan olika patienter. Sannolikt spelar djurägarens ekonomin stor roll. Exempelvis PCR undersökningen är dyrbar och flesta djurägare tackar följaktligen nej till denna diagnostik som fortfarande är att betrakta som ett forskningsverktyg. När hundarna är asymtomatiska följer veterinärerna patienten oftast med allmän klinisk undersökning och serologi, hematologi samt elfores. Baserat på de uppgifter som registrerats i de fall jag har följt upp närmare finns det en korrelation mellan sjukdomens allvarlighetsgrad och svaren från dessa prover. Vid försämring så verkar det först ske genom en påverkan på elfores samt stigande serologiresultat. Även blodvärdena påverkas genom att djuren i allmänhet får anemi till följd av infektionen. Ett exempel på detta är fall 16.

### **Sverige och leishmanios**

Nya sjukdomar skapar oro och ställer ökade krav på hur samhället ska hantera den uppkomna situationen (<http://www.svd.se/>). Genom att inhämta fördjupad kunskap och förmedla denna till befolkningen kan man dock hjälpa till och lugna ner ägarna till drabbade hundar.

För några år sedan skrämdes svenska media upp befolkningen genom att skriva om CL, men som är en sjukdom som sedan urminnes tider har funnits i Medelhavsområdet (<http://www.svd.se/>). I SVT:s Uppdrag granskning som sändes den 14/1 2009 kunde man få uppfattningen att även andra insekter förutom sandmyggan överför infektionen till människor ([www.folkhalsomyndigheten.se/](http://www.folkhalsomyndigheten.se/)). Detta är ett bra exempel på hur media kan omvandla information vilket leder till fel uppfattning om sjukdomen. Ett annat exempel på det är rekommendationen att man bör avliva infekterade hundar på grund av att behandlingen inte är 100% effektiv (<http://www.scalibor.se/>). Enligt Leishvet, en vetenskaplig förening som grundades under Worldleish 3 och som hölls i Palermo 2005 är denna rekommendation överdriven (Solano-Gallego et al. 2011).

Leishvets rekommendationerna baseras på att veterinärer ger adekvat behandling till seropositiva hundar. Det är också viktigt att informera djurägarna om att CL är en kronisk sjukdom och med de risker som kan uppkomma. För att lyckas med adekvat behandling är det viktigt att djurägaren är motiverad och följer veterinärens ordination (Solano-Gallego et al., 2011). Vid allvarlig sjukdom när hundpatienter lider och inte svarar på behandlingen och visar symptom på immunkomplexbildning med njurpåverkan bör man dock överväga avlivning (<http://www.jordbruksverket.se/>). En vanligare orsak enligt de journaler som jag tagit del av tycks dock vara att man avlivar hundar av kostnadsskäl.

Enligt Jordbruksverket har det rapporterats totalt 191 hundar med leishmanios i Sverige under de senaste 8 åren (2006-2013) (<http://www.jordbruksverket.se/>). Vi vet att vektorn för *L. infantum* inte förekommer i Sverige (Baneth, 2008), vilket i sin tur innebär att sjukdomen inte kan spridas vidare här. Samtidigt finns rapporter om att parasiten även kan spridas venerisk och vertikalt exempelvis via bett (Solano-Gallego et al., 2011). Hundar som importerats brukar vara kastrerade och lever i allmänhet under ordnade förhållanden varvid risken för konfrontation med andra hundar minskar. Sammantaget innebär detta att risken för att sprida smittan vidare i Sverige är så gott som obefintlig.

Däremot reser svenskar mer idag med sina hundar till länder där de *Phlebotomus*-myggor som sprider leishmanios kan finnas. Turisterna oroar sig inte för att åka dit, sannolikt eftersom om immunförsvaret är normalt är sannolikheten för att drabbas av parasiten ytterst liten. Det finns dock en viss risk för barn under 5 års ålder eller infekterade vuxna människor med HIV kan drabbas av sjukdomen (Gradoni et al., 1995). Även människor med exempelvis HIV kan få leishmanios som sekundär infektion. Följaktligen är det viktigt att följa de profylaktiska rekommendationerna inte bara för djuren utan också för människor.

### **Import och risk för leishmaniosspridning i Sverige**

Vi vet att CL är en komplicerad sjukdom som är relativt lätt att diagnostisera med serologi och/eller PCR-teknik. Problemet är att det finns förekommer ett stort antal subkliniskt infekterade hundar som med lätthet undgår upptäckt (Solano-Gallego et al., 2009). Seropositiva hundar kan även beroende på immunstatus plötsligt omvandlas och bli seronegativa. I motsats om hunden är vaccinerad eller har klarat av sjukdomen kommer den att ha antikroppar mot *L. infantum*. Det finns exempel på hundar som har avdödat parasiten och som är seropositiva (Shaw, 1991). Det är därför enligt mitt synsätt orimligt att tullen skall kräva ett negativt ELISA test vid hundimporter från endemiska områden.

Däremot kan man tänka sig att införa ett krav på att hundar som reser till dylika områden vaccineras eller att de testas såväl vid utresan som efter hemkomsten. Valpar bör dock inte vaccineras innan 6 månaders ålder eftersom immunförsvaret måste vara tillräckligt moget för att kunna bilda antikroppar mot infektionen (<http://www.ema.europa.eu>). Det går därför inte att kräva vaccination i ett tidigare skede. Alternativt måste man kräva att hundar inte tillåts resa innan 6 månaders ålder. Risken för att en djurägare som äger en infekterad hund och som bor i ett icke endemiskt område ska bli smittad av *L. infantum* från sin hund är minimal (Teske et al., 2002). Då är risken betydligt högre att man blivit biten av vektorn under vistelsen i det endemiska området.

Man kan också rekommendera kastration av infekterade hundar eller undvika att de parar sig eftersom parasiten kan spridas venereologiskt (Solano-Gallego et al., 2011). Vid återkomsten till Sverige från ett endemiskt område bör en veterinärkontroll med fokus på *L. infantum* alltid genomföras. För att kunna uppnå målet att följa rekommendationer krävs att veterinärutbildningen i Sverige informerar framtidens veterinärer om vilka diagnostiska metoder, behandling och profylax hos hundar som står till buds mot för *L. infantum*.



## **APPENDIX 1**

### **ELISA indirekt test**

1. Reagensen måste vara rumstemperade under minst 2 timmar
2. Serums späds till 1/100 med provbuffert: 4µl serum blandas med 400 µl spädningsmedel
3. Konjugatet förbereds (koncentrat 100x av konjugat blandas med peroxidas, färdigt som konventionella kitten innehåller): 1/100 med spädningsmedel (4 µl konjugat 100x i 400 µl av spädningsmedel)
4. Förbered de positiva och negativa kontrollerna
5. 100 µl av provet och kontroller (positiv och negativ) tillsätts till brunnarna i mikrotitersplattan. Inkubera 10 min
6. Tvätta 4 gånger: 300 µl tvättlösning (späds destillerat vatten 1 till 10)
7. 100 µl konjugat tillsätts till samtliga brunnar. Inkubera 10 min
8. Skölj 4 gånger (300 µl tvättlösning)
9. Tillsätt 100 µl TMB-substrat
10. Tillsätt 100 µl stopplösning (svavelsyra)
11. Läs plattan i en plattläsare vid 450nm

## APPENDIX 2

### Protokoll för PCR med PureLink® Genomics DNA Kits

1. Blanda 96-100% etanol till PureLink® Genomics tvättbuffer 1 och PureLink® genom tvättbuffer 2 enligt särskilda instruktioner.
2. Tillsätt blodlysat (ca 640 µL) i en kolonn
3. Centrifugera 10,000 x g i en minut i rumstemperatur
4. Tvätta DNA:
  - 4.1 Tillsätt 500 µL tvättbuffer och (punkt 1) till kolonnen
  - 4.2 Centrifugera i rumstemperatur 10,000 x g i en minut
  - 4.3 Placera kolonnen i en ren PureLink® samlingsrör som följer med kittet
  - 4.4 Tillsätt 500 µL tvättbuffer 2 (punkt 1).
  - 4.5 Centrifugera i rumstemperatur i maxhastighet 3 minuter
5. Eluera DNA:
  - 5.1 Placera kolonnen i ett sterilt 1,5-mL mikrocentrifugerrör
  - 5.2 Tillsätt 25-200 µL PureLink® Genomic elueringsbuffer till kolonnen
  - 5.3 Inkubera i rumstemperatur en min. Centrifugera i rumstemperatur i maxhastighet i en min
  - 5.4 Uppperpa i ett nytt sterilt 1,5-mL rör för att få mer DNA
  - 5.5 Centrifugera kolonnen i maxhastighet i 1,5 minuter i rumstemperatur
6. DNA färdigpreparerat. Därefter enligt särskilt manual utförs PCR 7900 HT fast realtime PCR system med särskild taqMan assay.

## REFERENSER

Solano-Gallego, L., Miró, G., Koutinas, A., Cardoso, L., Grazia Pennisi, M., Ferrer, L., Bourdeau, P., Oliva, G., Baneth, G. (2011). LeishVet guidelines for the practical management of canine leishmaniosis. *Parasites & Vectors*, vol 4, ss 1-16.

Bates, P. (2007). Transmission of *Leishmania* metacyclic promastigotes by phlebotomine sand flies. *International Journal for Parasitology*, vol 37, ss. 1097-1106.

Fry, M.M., McGavin, M.D. (2007). Bone Marrow, Blood Cells, and Lymphatic System. I: McGavin, M.D & Zachary, J.F. *Pathologic basis of Veterinary disease*. 4<sup>th</sup> edition. St. Louis: Mosby Elsevier, ss. 812, 827-828.

Baneth, G. (2008). Leishmaniasis. I: Greene, C.E. *Infectious diseases of the dog and cat*. 3rd edition. Athens: Saunders Elsevier, ss. 685-693.

Killick-Kendrick, R. (1999). Biology of sandfly vectors of Mediterranean canine leishmaniasis. *Proceedings of the International Canine Leishmaniasis Forum, Barcelona, Spain*.

Alvar, J., Canavate, C., Molina, R., Morena, J., Nieto, J. (2004). *Advances in Parasitology*, vol 57, ss. 1-88.

Solano-Gallego, L., Koutinas, A., Miró, G., Cardoso, L., Pennisi, M.G., Ferrer, L., Bourdeau, P., Oliva, G., Baneth, G. (2009). Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniosis. *Veterinary Parasitology*, vol 165, ss. 1-18.

Shaw, S.E. (1991). *Leishmania donovani* infantum. I: Shaw, S.E. & Day, M.J. *Arthropod-borne Infectious Diseases of the Dog and Cat*. Wiley-Blackwell, ss. 407-408.

Pinelli, E., Killick-Kendrick, R., Wagenaar J., Bernadina, W., Del Real, G., Ruitenberg, J. (1994). Cellular and Humoral Immune Responses in Dogs Experimentally and Naturally Infected with *Leishmania infantum*. *American Society for Microbiology*, vol. 62, ss. 229-235.

Ciaramella, P., Oliva, G., De Luna, R., Ambrosio, R., Cortese, L., Persechino, A., Gradoni, L., Scalone, A. (1997). A retrospective clinical study of canine leishmaniasis in 150 dogs naturally infected by *Leishmania infantum*. *Veterinary Record*, vol. 141, ss. 539-543.

Reguera, R.M., Cubría, J.C., Ordóñez, D. (1998). The Pharmacology of Leishmaniasis. *Gen. Pharmac.*, vol. 30, ss. 435-443.

Francino, O., Altet, L., Sánchez-Robert, E., Rodríguez, A., Solano-Gallego, L., Alberola, J., Ferrer, L., Sánchez, A., Roura, X. (2006). Advantages of real-time PCR assay for diagnosis and monitoring of canine leishmaniosis. *Veterinary Parasitology*, vol. 137, ss. 214-221.



García Más, I., Muñoz Araújo, B., Aquirre Inchaurre, A., Polo Roldán, I., García Moreno, A., Refoyo Román, R. Insectos Dípteros. *Manual de laboratorio de Parasitología 12*, vol. 2, ss. 80-105.

Amusategui, I. (1998). *Tratamiento de la Leishmaniosis canina: Valoración, Caracterización y comparación de la respuesta a distintos protocolos a base de antimonio de meglumine (asociado o no con alopurinol). Tesis doctoral.*

<http://biblioteca.ucm.es/tesis/19972000/D/2/D2017401.pdf> [2013-12-29]

European Medicines Agency. (2011-03-14). *Sammanfattning av EPAR för allmänheten – CaniLeish*. [http://www.ema.europa.eu/docs/sv\\_SE/document\\_library/EPAR\\_-\\_Summary\\_for\\_the\\_public/veterinary/002232/WC500104955.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/sv_SE/document_library/EPAR_-_Summary_for_the_public/veterinary/002232/WC500104955.pdf) [2013-11-04]

Virbac – SEVC (2011). *Avances en el manejo de la Leishmaniosis Canina.*

[http://vet.virbac.es/p-virbacesprves/pdf/Right\\_bar/PONENCIAS.pdf](http://vet.virbac.es/p-virbacesprves/pdf/Right_bar/PONENCIAS.pdf) [2013-10-14]

Virbac (2012). *Leishma news*. <http://www.my-virbac.co.uk/file.aspx?id=10> [2013-10-08]

Sveriges television (2013-04-04). *Rädda och aggressiva gatuhundar adopteras.*

<http://www.svt.se/nyheter/regionalt/sydneytt/vill-varna-for-adoption-av-hundar-fran-rumanien> [2013-12-12]

Teske, E., Van Knapen, F., Beiger, E.G.M., Slappendel, R.J. (2002). Risk of Infection with *Leishmania* spp. in the Canine Population in the Netherlands. *Acta veterinaria scandinavica*, vol 43, ss. 195-201.

Gradoni, L., Bryceson, A., Desjeux, P. (1995). *Treatment of mediterranean visceral leishmaniasis*, vol 73, ss. 191-197

Scalibor. *Leishmanios hos hund*. <http://www.scalibor.se/Vektorburna/Leishmanios.asp> [2014-04-21]

Jordbruksverket (2014-04-04). *Statistik över indexfall av anmälningspliktiga djursjukdomar*. <http://www.jordbruksverket.se/amnesomraden/djur/sjukdomarochsmittskydd/anmalningsplikt/sjukdomsstatistik.4.4ef62786124a59a20bf80001409.html> [2014-04-19]

Folkhälsomyndighet (2014-03-24). *Leishmania infektion och importerade hundar.*

<http://www.folkhalsomyndigheten.se/nyheter-och-press/historik-smi-nyheter/2009/januari/leishmaniainfektion-och-importerade-hundar/> [2014-04-19]

Svenska Dagbladet (2007-09-27). *Sjuka hundar förs lagligt till sverige.*

[http://www.svd.se/nyheter/inrikes/sjuka-hundar-fors-lagligt-till-sverige\\_217687.svd](http://www.svd.se/nyheter/inrikes/sjuka-hundar-fors-lagligt-till-sverige_217687.svd) [2014-01-10]

Jordbruksverket (2013-06-28). Det finns regler för kupering, tatuering, operativa ingrepp och avlivning av hundar och katter.  
[http://www.jordbruksverket.se/amnesomraden/djur/olikaslagsdjur/hundarochkatter/skotseloch\\_tillsyn/kuperingtatueringavlivningochandraingrepp.4.207049b811dd8a513dc80001997.html](http://www.jordbruksverket.se/amnesomraden/djur/olikaslagsdjur/hundarochkatter/skotseloch_tillsyn/kuperingtatueringavlivningochandraingrepp.4.207049b811dd8a513dc80001997.html)  
[2014-01-12]

Cairó. 1992. Leishmaniosis canina. Aspectos clinicos. *VelPeqAnim*, vol 2, ss. 73-81.

Rodríguez Sánchez, M., Tosoirro Dioz, M.A., Chiacchio, S.B. (1984). Leishmaniosis canina. *Bol Inform Cons Gral Col*, vol 26, ss. 119-125.

Groulade, P. (1977). Hémnatologie et biologie cliniques dans la leishmaniose. *Anim Comp*, vol 2, ss. 121-128.

Bourdoiseau, O. (1993). La leishmaniose canino. *Rhône Méfleux*.

Martínez Sallés, J., Lloret Roca, A. (1992). Leishmaniosis canina: Un estudio retrospectivo. *Premios Fundación Purina*, ss. 71-88.

Varela Balcelís, F. (1992). Inmunopatología de la leishmaniosis canina: bases teóricas y aspectos prácticos. *Premios Fundación Purina*, ss. 11-54.

Cabassu, J.I', Gervais, P., Seguret, N., Rousset-Rouvière, B. (1988) Hílan biologique chez le chien leishmanien. *Prat Méd Chir Anim Comp*, vol 23, ss. 35-42.

Groulade, P. (1988). L'intérêt de l'électrophorèse des protéines sériques dans le bilan à le suivi au cours de la leishmaniose canine. *Prat Méd Chir Anim Comp*, vol 23, ss. 93-101.

Koutinas, A.F., Kontos, V., Kaldrimidou, H., Lekkas, S. (1995). Canine leishmaniasis-associated nephropathy: a clinical clinicopathologic and pathologic study in 14 spontaneous cases with proteinuria. *Europ J Comp Anim Pract*, vol 2, ss. 31-38.

Cabassu, J.P., Gervais, P., Seguret, N. (1988). Manifestations cliniques de la leishmaniose amine. *Prat Méd Chir Anim Comp*, vol 23, ss. 29-34.

Slappendel, R.J. (1998). Canino leishmaniasis. A review on 95 cases in the Netherlands. *Vet Quater*, vol 10, ss. 1-17.

Rodríguez Sánchez, M., González Arribas, J.L., Castaño Rosado, M., Fermín Rodríguez, M.L., Díaz Yubero, M.A. (1981) Leishmaniosis canina. *AVEPA*, vol 1, ss. 11-18.

Palacio, J., Liste, F., Gascón, M. (1995). Urinary protein/creatinine ratio in the evaluation of renal failure in canine leishmaniasis. *Vet Record*, vol 137, ss. 567-568.

Groulade, P. (1983). L'électrophorèse des protéines sériques dans la leishmaniose canine. *Revue Méd Vét*, vol 134, ss. 701-708.

Ferrer, L. (1992). Leishmaniasis. Kirk's Current Veterinary Therapy XI. *Small Animal Practice*, ss. 266-270.